



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EDULCORANTES: INVESTIGACIÓN DE LOS PRINCIPALES USOS EN  
LA INDUSTRIA ALIMENTICIA ASÍ COMO RIESGOS A LA SALUD Y LA  
IMPORTANCIA DE SU USO.**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**JORGE ESPARTACO FRAGOSO MARTÍNEZ**

**MÉXICO, D.F. 2015**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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:** Profesor: Marcos Francisco BÁEZ FERNÁNDEZ

**VOCAL:** Profesor: Hugo Rubén CARREÑO ORTÍZ

**SECRETARIO:** Profesor: Bertha Julieta SANDOVAL GUILLÉN

**1er. SUPLENTE:** Profesor: Miguel Ángel HIDALGO TORRES

**2° SUPLENTE:** Profesor: Juan Diego ORTÍZ PALMA

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Bertha Julieta SANDOVAL GUILLÉN**

**SUSTENTA:**

**JORGE ESPARTACO FRAGOSO MARTÍNEZ**

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
OBJETIVOS .....	6
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS PARTICULARES.....	6
CAPÍTULO 1.- PRINCIPALES EDULCORANTES NO CALÓRICOS UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. ....	7
1.1.- GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN .....	7
1.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA, HISTORIA Y SÍNTESIS .....	11
1.2.1.- SUCRALOSA .....	11
1.2.2. SACARINA .....	14
1.2.3 ASPARTAME .....	15
1.2.4. ACESULFAME K.....	16
1.2.5 CICLAMATO .....	17
1.2.6.- ESTEVIA .....	18
1.2.7.- NEOTAME.....	21
1.3.- PODER EDULCORANTE, ADI (INGESTA DIARIA ADMISIBLE) .....	22
1.4.-USOS Y DOSIS .....	25
1.4.1.- ASPARTAME .....	25
1.4.2.- ACESULFAME DE POTASIO .....	27
1.4.3.- SACARINA.....	28
1.4.4.- SUCRALOSA .....	29
1.4.5.- CICLAMATOS .....	30
1.4.6.- NEOTAME.....	31
1.4.7.- ESTEVIA .....	32

1.5.- LEGISLACIÓN .....	34
CAPÍTULO 2.- CONTROVERSIA SOBRE LA ASOCIACIÓN DE ENFERMEDADES Y LA INGESTA DE EDULCORANTES NO CALÓRICOS .....	37
2.1.- CÁNCER .....	37
2.2.-DAÑOS AL SISTEMA DIGESTIVO .....	38
2.3.- ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS.....	41
2.4.-ATROFIA TESTICULAR.....	43
CAPÍTULO 3.- METABOLISMO Y TOXICOLOGÍA DE LOS PRINCIPALES EDULCORANTES NO CALÓRICOS UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.....	45
3.1.- GENERALIDADES .....	45
3.2.- ESTUDIOS DE TRAYECTORIA METABÓLICA Y TOXICIDAD .....	47
3.2.1.- CICLAMATO .....	49
3.2.2.- ASPARTAME .....	50
3.2.3.- ACESULFAME DE POTASIO .....	51
3.2.4.- ESTEVIA .....	51
3.2.5.- SUCRALOSA .....	52
3.2.6.- NEOTAME.....	53
3.2.7.- SACARINA .....	54
DISCUSIÓN.....	55
CONCLUSIONES .....	79
BIBLIOGRAFÍA.....	80
ANEXO I: Dosis máximas permitidas de edulcorantes. ....	94
ANEXO II: Estudios toxicológicos de los edulcorantes de alta potencia más importantes en la industria de alimentos llevados a cabo por diversas instituciones como FDA, JECFA.....	101

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la mala alimentación así como el alto índice de sedentarismo han causado un aumento significativo de obesidad y sobrepeso en la población mundial, alcanzando cifras de 1900 millones de adultos con sobrepeso y más de 600 millones de ellos con obesidad. Por este motivo se han implementado diversas alternativas para disminuir el aporte calórico de alimentos y bebidas, siendo una de ellas la sustitución total o parcial de los azúcares. Otro motivo por el cual la industria de alimentos busca reemplazar como materia prima al azúcar es debido a su pretensión de disminuir los costos de producción, ya que los impuestos gravados a dicho ingrediente han ido en aumento.

El ser humano, por naturaleza, se niega a renunciar al sabor dulce que confieren algunos alimentos, por lo que los edulcorantes artificiales de alta potencia han sido una alternativa para sustituir al azúcar en la elaboración de alimentos y bebidas, así como endulzante de mesa. Sin embargo, ha habido una gran polémica entre ingerir edulcorantes artificiales y los posibles daños a la salud que podrían suscitarse.

Diversos tipos de cáncer, problemas digestivos, daños neuronales, etc., han sido algunas de las enfermedades que se han asociado al consumo de productos que contienen edulcorantes artificiales. La falta de información o la alteración de la misma ha traído como consecuencia que muchos consumidores rechacen productos elaborados con edulcorantes artificiales de alta potencia, es por ello que en el presente trabajo se precisa realizar una exhaustiva búsqueda en cuanto a estudios toxicológicos de edulcorantes de alta potencia se refiere, con la finalidad de averiguar si dichas enfermedades podrían desarrollarse al ingerir estos aditivos a las dosis a las cuales son empleadas en la industria de alimentos.

## **OBJETIVOS**

### ***OBJETIVO GENERAL***

Evaluar la información reportada de los edulcorantes más utilizados en el sector alimentario a nivel nacional, para conocer las posibles enfermedades que se podrían desarrollar al consumirlos a las dosis empleadas y permitidas en los alimentos.

### ***OBJETIVOS PARTICULARES***

Estudiar los edulcorantes de alta potencia permitidos por diversos organismos a nivel mundial como lo son la FDA (Food & Drug Administration) y la UE (Unión Europea) el por qué de su uso o restricción.

Averiguar cuáles son los edulcorantes permitidos en México autorizados por la SS (Secretaría de Salud).

Investigar las principales enfermedades asociadas al consumo de edulcorantes de alta potencia para analizar si la ingesta de éstos es inherente a dichas enfermedades.

Conocer los posibles riesgos a la salud que podrían presentarse al ingerir edulcorantes de alta potencia con la finalidad de debatir si las dosis aplicadas en los alimentos son las adecuadas.

# **CAPÍTULO 1.- PRINCIPALES EDULCORANTES NO CALÓRICOS UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.**

## ***1.1.- GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN***

Desde inicios de la historia, el hombre ha consumido productos que confieren dulzor al paladar, desde frutos hasta azúcar de caña. Esta última ha sido utilizada como el principal edulcorante natural para impartir dicha propiedad a los alimentos. Probablemente el primer edulcorante utilizado por el humano fue la miel de abeja. Al menos de este edulcorante se tienen referencias que datan de hace más de 20,000 años: En una pintura rupestre encontrada en Arana, España, se muestra a un hombre recogiendo miel de un panal (Bravo *et. al.*, 2004.).

Los edulcorantes que no aportan calorías al ser ingeridos son llamados edulcorantes no calóricos, edulcorantes de alta intensidad, edulcorantes de alto impacto, edulcorantes artificiales, etc.

En los últimos años ha incrementado la preocupación por los riesgos y problemas a la salud que puede provocar la ingesta en exceso del azúcar de caña ya que la mayoría de los productos alimenticios están elaborados con sacarosa o jarabe de maíz de alta fructosa como materia prima. El sobrepeso y la obesidad son problemas que aquejan a la población mundial, esto debido al desequilibrio que existe entre la ingesta calórica y el nivel de actividad física realizada; es por ello que diversas instituciones internacionales han establecido programas emergentes para combatir esta dificultad. Los altos índices de obesidad y sobrepeso pueden desembocar en múltiples padecimientos crónico-degenerativos como son las enfermedades coronarias, Diabetes tipo II, etc. Esa situación ha sentado las bases para el desarrollo de nuevos productos con bajo aporte calórico, para lo cual es necesario el conocimiento de los diferentes edulcorantes con que cuenta actualmente el tecnólogo en alimentos y orientar al consumidor interesado en disminuir la ingesta de calorías, para mantener un nivel de vida saludable. Esto debido a que el humano no está dispuesto a renunciar al placer que provoca el

hecho de consumir algún producto que confiera notas dulces (Echavarría-Almeida, 2012).

La FAO, a través del *Codex Alimentarius*, define a los edulcorantes como aquellas sustancias diferentes al azúcar que confieren a un alimento un sabor dulce, además los divide en edulcorantes artificiales y edulcorantes nutritivos (FAO, 2000). Por otro lado, la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, en su apartado de definiciones, precisa a los edulcorantes sintéticos como aquellas sustancias orgánico-sintéticas que pueden sustituir parcial o totalmente el dulzor de los edulcorantes naturales (Secretaría de Salud, 1994). En cuanto a la clasificación de los edulcorantes se refiere, existen diversas formas de categorizarlos; se clasifican con base en su naturaleza, en su aporte calórico y por su estructura (García-Garibay y López-Munguía, 1993).

Clasificación de los edulcorantes según su naturaleza:

- Naturales: Extraídos de alguna materia prima.
- Químicos: Obtenidos mediante un proceso de síntesis química.
- Biotecnológicos: Obtenidos mediante un proceso enzimático o fermentativo.
- Químico-biológicos: Mediante una combinación de procesos químicos y biotecnológicos.

(García-Garibay y López-Munguía, 1993).

Clasificación de los edulcorantes según su aporte calórico:

- Calóricos/nutritivos: Aquellos que pueden ser metabolizados por el humano y por tanto generar energía.
- No calóricos/no nutritivos: Aquellos que no son metabolizados por el organismo humano.

Clasificación de los edulcorantes según su estructura:

- Hidratos de carbono.
- Alcoholes polihídricos.
- Glucósidos.
- Proteínas.

(Giannuzzi y Molina, 1995)

En la figura 1 se esquematiza la clasificación de los edulcorantes según su estructura y aporte calórico.

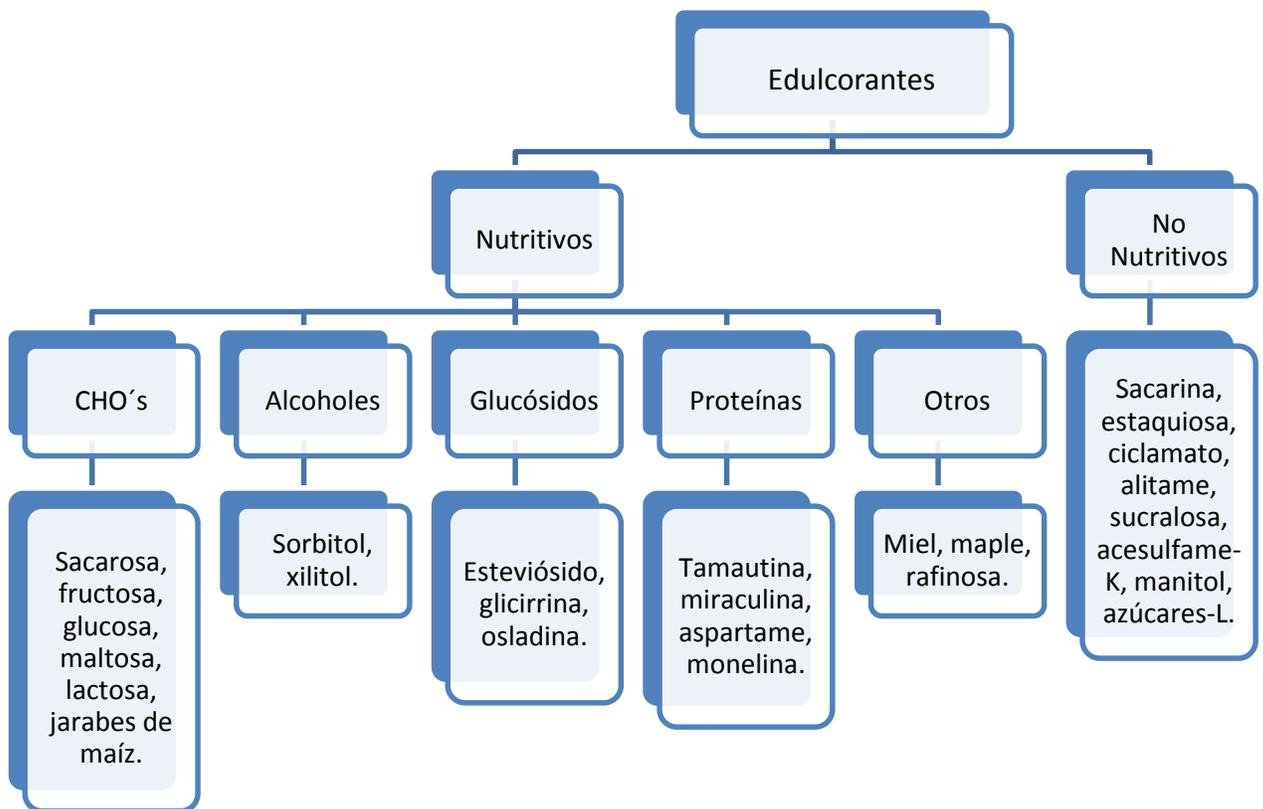


Figura 1.- Clasificación de los edulcorantes según su estructura y su aporte calórico. (Valdés, 2009)

Existen diversas polémicas sobre el uso de edulcorantes artificiales, sobre todo en lo que respecta a si su consumo es seguro o no. Es importante mencionar que para lograr que cualquier sustancia sea aprobada para su uso en los alimentos, es requisito indispensable que su inocuidad sea demostrada a través de una serie de estudios experimentales y pasar por la revisión de diversos comités de expertos como la Agencia de los Estados Unidos para los Alimentos y los Fármacos (FDA por sus siglas en inglés), el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) o la Agencia Europea de Seguridad en Alimentos, entre otros. Por ejemplo, para que el aspartame fuera aprobado, pasaron 16 años desde su descubrimiento mientras que la sucralosa tuvo que esperar 22 años. Hoy en día éstos son de los edulcorantes no calóricos más conocidos.

Esos mismos comités de expertos han establecido lo que se denomina la Ingesta Diaria Admisible (IDA), que es la cantidad que se puede consumir todos los días a lo largo de la vida sin que exista riesgo a la salud, es decir, es un nivel de consumo seguro. Como ejemplo se tendría que, para alcanzar el valor de la IDA de aspartame (40 mg por kilogramo de peso corporal por día), una mujer de 60 kilogramos tendría que consumir cada día de su vida 280 tabletas de edulcorantes no calóricos o 20 latas de refresco de dieta.

Los edulcorantes de alta intensidad, tanto sintéticos como naturales, representaban el 9,6% del mercado global de los edulcorantes en 2010. La sacarina sigue dominando el mercado global de los edulcorantes de alta intensidad (EAI) en cuanto a niveles de consumo con cerca de 7,4 millones de toneladas en 2010, y con su producción y consumo focalizados en China. El aspartame es el segundo mayor EAI con un consumo de unos 4,3 millones de toneladas. El acesulfame-K, con un consumo estimado de 1,2 millones de toneladas no está experimentando un gran crecimiento. Aunque el neotame ha sido un edulcorante muy bien aceptado, la Stevia ha ganado una mayor simpatía entre la industria alimentaria desde su aceptación por la Unión Europea y la FDA (Organización Internacional del Azúcar, 2013). En la figura 2 se muestran los edulcorantes no calóricos más importantes de la industria alimentaria.

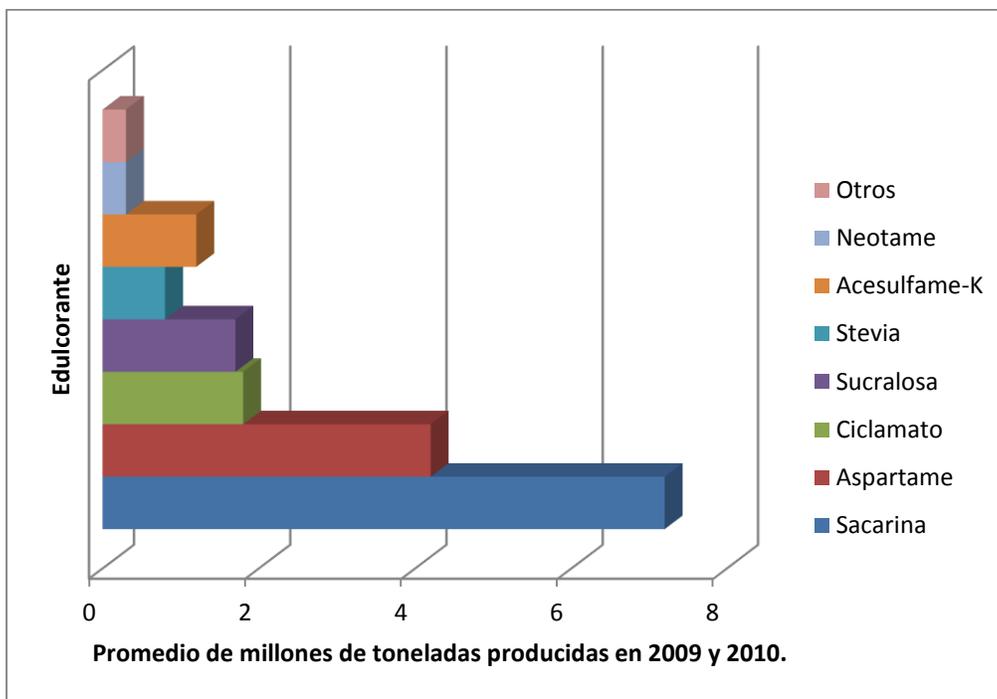


Figura 2.- Principales Edulcorantes de Alta Intensidad utilizados en la industria alimentaria. Fuente: Organización Internacional del Azúcar, 2013

Con base en el estudio realizado por la Organización Internacional del Azúcar (Edulcorantes alternativos en un contexto de altos precios del azúcar) se puede observar que los edulcorantes de mayor impacto en la industria de alimentos son el neotame, acesulfame de potasio, sucralosa, sacarina, ciclamatos, la estevia y el aspartame, por lo tanto este trabajo se centrará solamente en dichos edulcorantes de alta potencia.

## ***1.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA, HISTORIA Y SÍNTESIS***

### **1.2.1.- SUCRALOSA**

La sucralosa (1,6-dicloro-1,6-dideoxi-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-deoxi-α-D-galactopiranosido o C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>8</sub>) (ver figura 3) fue descubierta en 1976 como resultado de un proyecto conjunto de investigación sobre edulcorantes naturales realizado por *Tate & Lyle* y el Queen Elizabeth College de Londres, Reino Unido

(Tollefsen *et. al.*, 2012). Los científicos, que estaban investigando la relación que existe entre la estructura y el sabor de la molécula de la sacarosa, descubrieron que al modificar la estructura del azúcar de cierta manera, podían intensificar el sabor dulce de esta molécula al mismo tiempo que la ingesta de ésta no aportaba calorías al cuerpo humano.

En 1999, la FDA extendió la aprobación de la sucralosa permitiendo que se emplee como un edulcorante en todos los productos alimenticios así como bebidas, suplementos alimenticios y medicinas. En Enero de 2004, la Unión Europea modificó su Directiva de Edulcorantes para permitir el uso de la sucralosa en una amplia gama de productos de alimentos y bebidas. El uso de la sucralosa está permitida ahora en más de 80 países y es consumida por millones de personas en todo el mundo (Grotz, 2009).

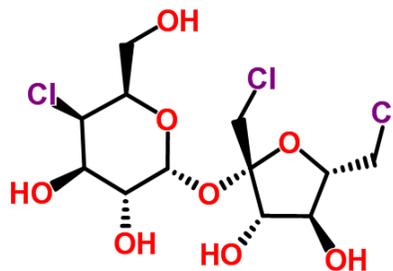


Figura 3- Estructura química de la sucralosa

Se produce por halogenación selectiva de sacarosa, reemplazando tres grupos hidroxilo de la molécula por tres átomos de cloro. La incorporación del cloro produce la liberación de calorías ya que este elemento transforma la molécula de sucralosa en inerte, tanto química como biológicamente por lo que atraviesa el organismo sin ser absorbida y se elimina después de su consumo. En la figura 4 se muestra la primera ruta sintética para la fabricación de sucralosa.

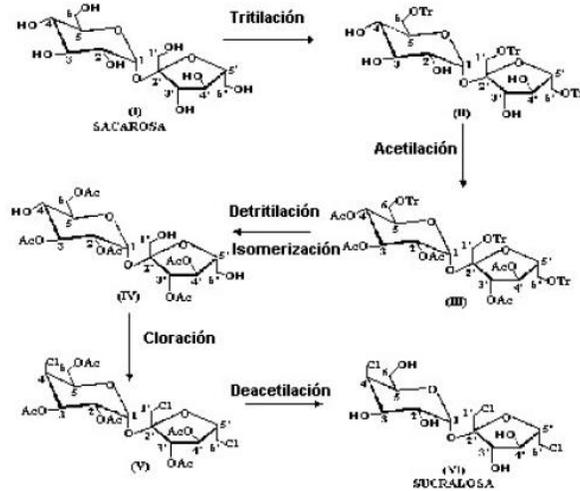


Figura 4.- Primera ruta sintética para la obtención de sucralosa (Neiditch *et. al.*, 2000).

Sin embargo, diversas compañías que han trabajado e investigado acerca de la síntesis de este edulcorante han encontrado otra vía más corta para la obtención de la sucralosa, estas vías se muestran en la figura 5.

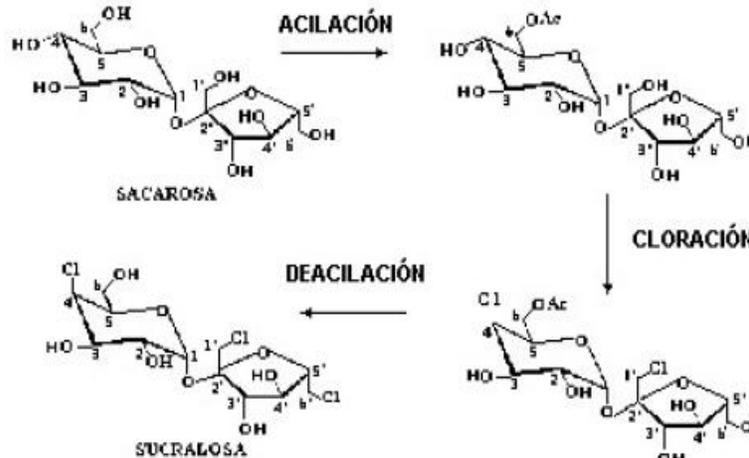


Figura 5.- Ruta sintética para la obtención de sucralosa utilizada por diversas compañías estadounidenses (Neiditch *et. al.*, 2000)

### 1.2.2. SACARINA

Físicamente, la sacarina se encuentra en forma de cristales blancos o polvo blanco, cristalino eflorescente, inodoro o de ligero olor, de sabor dulce intenso, incluso en soluciones muy diluidas. Este edulcorante (1,2-benzotiazol-3(2H)-1,1,1-dioxido o  $C_7H_5NO_3S$ ) fue descubierto accidentalmente por Fahlberg y Remsen en 1879 mientras estaban estudiando la oxidación de o-tolueno-sulfonamidas

En la síntesis de la sacarina, (ver figura 6), se sulfona tolueno [1] con el ácido clorosulfónico, formando los cloruros de 2- y 4-toluenosulfonilo, que se separan por recristalización. El cloruro de 2-toluenosulfonilo [2] reacciona con amoníaco formando la 2-toluenosulfonamida [3] que por oxidación con permanganato de potasio produce sacarina [5].

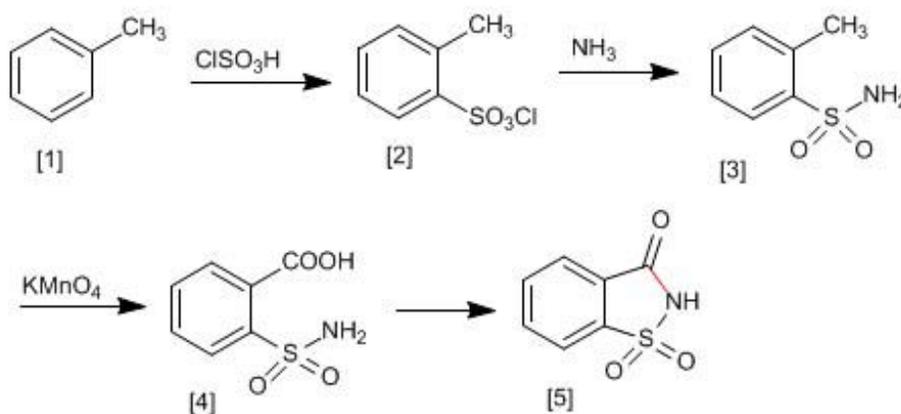


Figura 6- Ruta sintética de la sacarina.

Fuente: Jiménez, 2014.

La sacarina es uno de los edulcorantes artificiales más estudiados, después de todo es el que ha estado presente por más tiempo. En 1900 la sacarina se había convertido en una materia prima muy popular entre los fabricantes de alimentos, utilizándola en los productos sin previo aviso como una alternativa barata al azúcar (Jiménez, 2014).

### 1.2.3 ASPARTAME

El aspartame, cuya denominación química es L-aspartil-L-fenilalanina-metiléster (ver Figura 7) se encuentra en forma de cristales blancos, sin olor, menos soluble que la sacarina y el ciclamato. Fue descubierto en 1965 por James Schatter. El peso molecular del aspartame es de 294,3 Da y es 200 veces más dulce que la sacarosa. Su sabor es prácticamente similar a la sacarosa y no tiene sabor amargo o metálico como la sacarina o el ciclamato en altas concentraciones (Inglett, 1994).

Debido a que el aspartame contiene fenilalanina, el consumo de éste en las personas que padecen fenilcetonuria está contraindicado, por esta razón los productos que lo contienen deben indicar en la etiqueta "Fenilcetonúricos: contiene fenilalanina". Fue aprobado inicialmente por la FDA en 1980, con algunas restricciones, las cuales fueron anuladas en 1986, quedando el producto, a partir de entonces, libre de restricciones para su registro y venta (Magnuson *et. al.*, 2007).

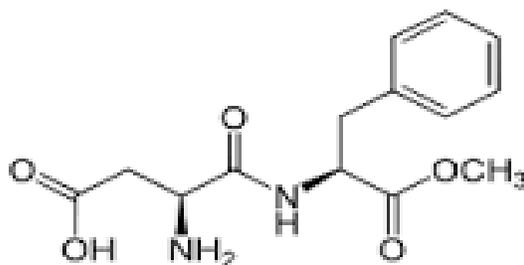


Figura 7.- Estructura química del aspartame

En los laboratorios GD Searle se descubrió el aspartame como un poderoso edulcorante, sin embargo fue la compañía Ajinomoto de Japón la que desarrolló y patentó muchos procesos para la producción comercial del aspartame (Mitchell, 2006). A finales de la década de los 70's, la compañía Toyo Soda patentó el uso de enzimas para proteger el enlace N-ácido aspártico a β-metilfenilalanina, seguido de los procesos de purificación y cristalización. La producción de

aspartame parte de dos aminoácidos: L-fenilalanina (producida por fermentación) y el ácido L-aspártico. Los grupos reactivos de los aminoácidos son protegidos con excepción del grupo que formará la unión del éster metílico. Posterior a esto, los aminoácidos son acoplados por medio de enzimas o por procesos químicos; y el grupo reactivo es removido. Por último se lleva a cabo la cristalización para la eliminación de impurezas (Mitchell, 2006).

#### 1.2.4. ACESULFAME K

En 1967 Karl Class y Harold Jensen del Laboratorio Hoechst A.G., trabajando con acetileno en la reacción de fluorosulfonilisocianato sintetizaron un producto con características dulces al que llamaron acesulfame. Como consecuencia de la prohibición del ciclamato en 1969 en Estados Unidos, los laboratorios Hoechst iniciaron un programa sistemático para optimizar las propiedades encontradas de este compuesto. La sal de potasio de este compuesto es conocida como acesulfame-K y en el mercado lleva el nombre "Sunette" (SunettDiv., Hoechst CelaneseCorp., Semerst N.J.). Es derivado del ácido acetoacético; se trata de un edulcorante no calórico sintético; su fórmula es 5,6-dimetil-1, 2,3-oxatizaina-4(3H)-ona-2,2-dióxido; su uso más frecuente es combinado con otros edulcorantes para intensificar su grado de dulzor y disminuir su sabor amargo. En la figura 8 se observa la estructura química del acesulfame de potasio (González, 2013).

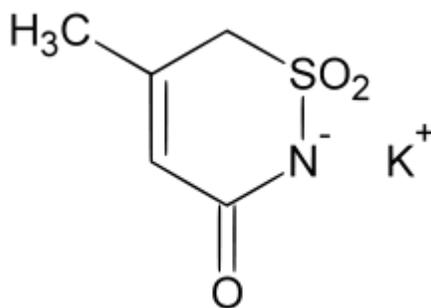


Figura 8.- Estructura química del acesulfame de potasio

La síntesis de este edulcorante se establece a partir del fluorsulfoilisocioanato y el éster butílico del ácido acetoacético. Los productos secundarios que pueden

acompañarlo como impurezas son la acetoacetamida y su derivado N-sulfonado (Camean & Repetto, 2012).

### **1.2.5 CICLAMATO**

Ciclamato es el nombre común del ciclohexilsulfamato. El ciclamato de sodio fue descubierto en 1937 en Estados Unidos. Es la sal sódica y cálcica del ácido ciclámico, presenta una elevada solubilidad en agua. Es el edulcorante menos intenso por lo que para aumentar su poder endulzante se mezcla con sacarina sódica y así se logra un producto más dulce. El ciclamato es estable al calor (hasta 200° C), al pH (entre 2 y 10) y su poder edulcorante es 30 veces el de la sacarosa, proporcionando un dulzor duradero sin aparición de regustos finales desagradables a concentraciones de uso normales, teniendo un efecto sinérgico con la sacarina y contribuye a reducir el sabor amargo de ésta.

Se utiliza en forma de sales cálcicas o de sodio frecuentemente en una mezcla de 10:1 con sacarina (Cubero, 2008). Ha sido tal vez el edulcorante más controvertido públicamente junto con la sacarina, desencadenando una serie de hechos políticos. En 1949 es aceptado por la FDA como aditivo, y en la categoría de GRAS en 1958. Después de una serie de incidentes el 18 de Octubre de 1969 el ciclamato es retirado de la lista de aditivos de la FDA, aunque en algunos países se encuentre actualmente en la lista de aditivos permitidos.

Desde entonces se han realizado estudios tan contradictorios como los entregados por el Instituto Nacional del Cáncer (1976) y la Academia Nacional de Ciencias (1985) de los Estados Unidos que confirman la no carcinogenicidad del ciclamato con estudios de otros investigadores que sí lo afirman. Como consecuencia de ello el ciclamato fue retirado de la lista de aditivos GRAS. Las investigaciones posteriores no resultaron concluyentes en cuanto a la carcinogenicidad del ciclamato. En Canadá el empleo de ciclamato fue restringido a tabletas y en 1978 fue aprobado nuevamente para su uso en productos

farmacéuticos (Giannuzzi y Molina, 1995). La estructura de este edulcorante se plasma en la figura 9.

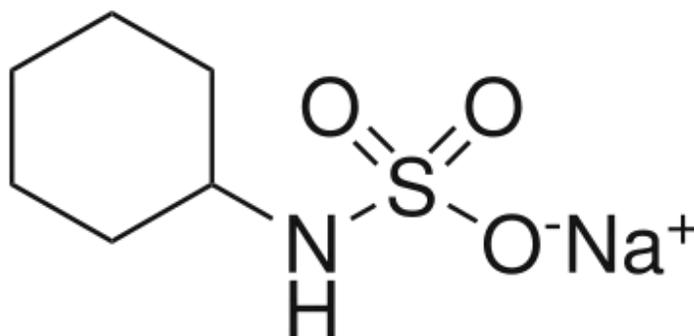


Figura 9.- Estructura química del Ciclamato de Sodio

#### 1.2.6.- ESTEVIA

La stevia es una planta originaria de Paraguay y fue descubierta en 1887, descrita y clasificada en 1889 por el botánico suizo Moisés Santiago Bertoni (1857-1929), momento a partir del cual recibió el nombre científico de *Stevia rebaudiana Bertoni*. Los indios guaraníes ya la utilizaban desde tiempos precolombinos, endulzando sus comidas y bebidas, la llamaron “ka’a-hée”, que significa “hierba dulce”. Existen más de 300 variedades de *Stevia* en la selva Paraguayo-Brasileira, pero la *Stevia rebaudiana Bertoni* es la única con propiedades endulzantes gracias a su principio activo, denominado “esteviósido” descrito en 1921 por la Unión Internacional de Química (López y Peña, 2004). Hasta la fecha, se encuentran diez diferentes compuestos químicos, responsables del sabor dulce de la planta (ver Tabla 1): esteviósido, rebaudiósido A, B, C, D, E y F, dulcósido A, rubusósida y steviolbíosida. El extracto es un polvo fino de color blanco y sabor extremadamente dulce. La mayor concentración del efecto dulce proviene del esteviósido y del rebaudiósido A. La estructura general de los glicósidos de *Stevia rebaudiana* están representados en la figura 10.

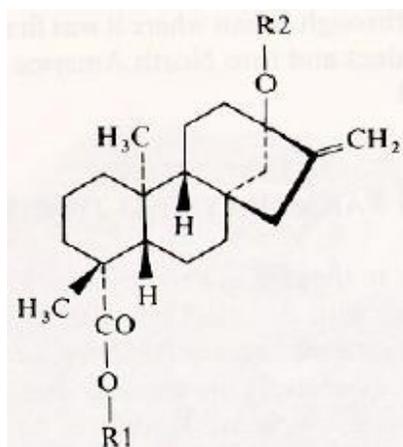


Figura 10.- Estructura general de los glicósidos de *Stevia rebaudiana*

(Soto, 2002)

Tabla 1.- Glicósidos presentes en *Stevia rebaudiana Bertonii*

Nombre	R1	R2
Esteviósido	-G	-G(2,1)G
Rebaudiósido A	-G	-G(2,1)G / (3,1)G
Rebaudiósido C (Dulcósido B)	-G	-G(2,1)R / (3,1)G
Dulcósido A	-G	-G(2,1)R
Rebaudiósido D	-G(2,1)G	-G(2,1)G / (3,1)G
Rebaudiósido E	-G(2,1)G	-G(2,1)G

G:  $\beta$ -glucopiranosil (glucosa)

R:  $\alpha$ -ramnopiranosil (ramnosa)

(Soto, 2002)

El esteviósido es un glucósido diterpénico en cuya estructura química se encuentran un aglicón llamado Steviol y tres moléculas de glucosa. Estos esteviósidos están presentes a la altura de 5 al 22 % del peso seco de la hoja de *Stevia*. En la figura 11 se muestra la estructura general de la molécula de los esteviósidos.

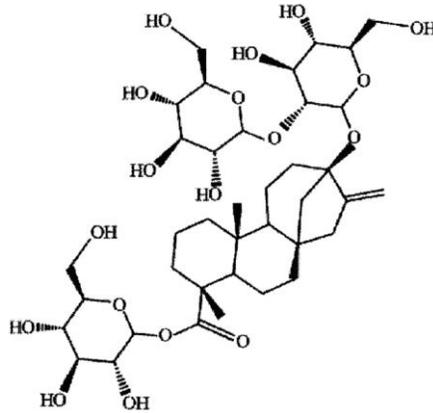


Figura 11.- Estructura general de los esteviósidos

En la figura 12 se muestra un diagrama de la obtención de los glicósidos de *Stevia* desde la extracción de los mismos hasta la purificación.

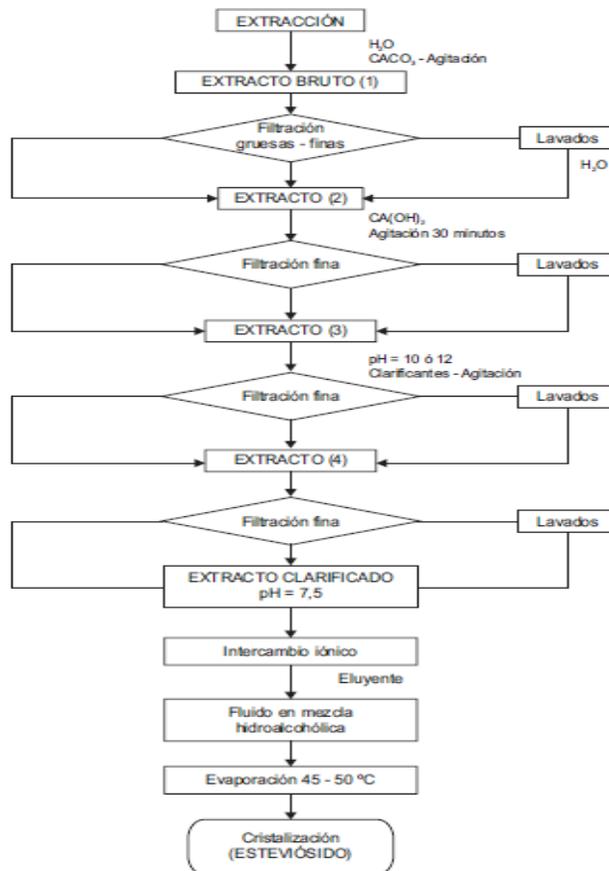


Figura 12.- Extracción de esteviósidos de la planta *Stevia rebaudiana Bertoni* (Soto, 2002)

### 1.2.7.- NEOTAME

El neotame (figura 13) es el nombre común para la especie química N-(n-(3,3-dimetilbutil)-L- $\alpha$ -aspartil) -1-L-fenilalanina 1- metil éster. Es sintetizado a través de una N-alkilación reductora de L- $\alpha$ -aspartil-1-L-fenilalanina-1-metiléster (aspartame). Al igual que el aspartame su uso principal es como un edulcorante intenso y potenciador del sabor (FAO, 2004).

Es un polvo blanco a blancuzco con un intenso sabor dulce. Es escasamente soluble en agua, pero muy soluble en etanol. Una solución acuosa al 0,5% de neotame es ligeramente ácida, con un pH entre 5,0 y 7,0.

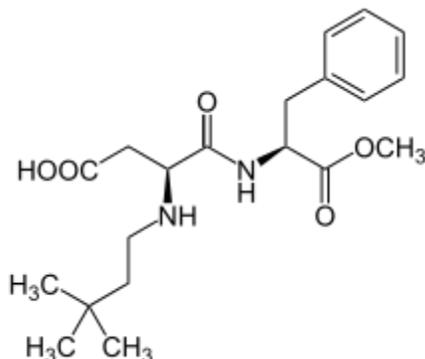


Figura 13.- Estructura química del neotame

El neotame es sintetizado a partir de aspartame y 3,3-dimetilbutiraldehído. Cantidades equimolares de aspartame y 3,3-dimetilbutiraldehído se hacen reaccionar con gas hidrógeno en metanol. Esta reacción se muestra en la figura 14.

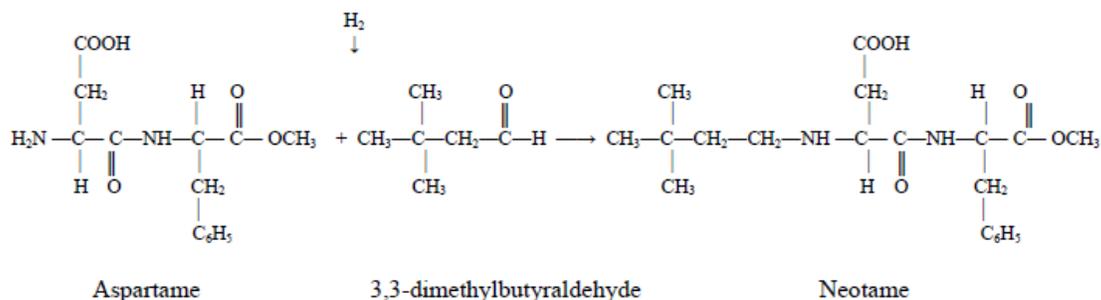


Figura 14.- Síntesis química del neotame (FAO, 2004.)

El aislamiento y la purificación del neotame se llevan a cabo por la destilación de una parte del metanol seguido de la adición de agua (aproximadamente 2,5 litros por mol aspartame). La mezcla es enfriada durante un par de horas y el neotame es aislado por un método de separación sólido / líquido apropiado tal como la centrifugación. El agua adicional se utiliza para lavar el producto, el cual es secado en un equipo apropiado, como un secador al vacío. (FAO, 2004).

### ***1.3.- PODER EDULCORANTE, ADI (INGESTA DIARIA ADMISIBLE)***

El poder edulcorante (PE) se define como los gramos de sacarosa que hay que disolver en agua para obtener un líquido de igual sabor que la disolución de 1 g de edulcorante en el mismo volumen. La valoración cuali-cuantitativa del dulzor se basa en las percepciones que un grupo de jueces entrenados tienen en su lengua, obteniéndose un valor promedio para dicha sensación. Los datos que se obtienen no se expresan en unidades absolutas, sino en valores relativos a un estándar arbitrariamente elegido. Se toma como referencia o patrón la sacarosa con un valor de 1 (Echavarría-Almeida, 2012).

Los edulcorantes alternativos al azúcar están reglamentados con base en su seguridad por diversas organizaciones internacionales, como son la Unión Europea, el Comité Conjunto de Expertos de la Organización Mundial de la Salud y la Organización para los Alimentos y la Agricultura (JECFA), la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), la Autoridad Europea de seguridad alimentaria (EFSA), la Food and Drug Administration (FDA) y la Secretaría de Salud de México. Estos organismos internacionales fijaron la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) de cada edulcorante artificial (Echavarría-Almeida, 2012).

La ingesta diaria aceptable es la cantidad de aditivo alimentario que puede ser consumido en la dieta diariamente durante toda la vida sin riesgos para la salud. El concepto fue desarrollado por el Comité Conjunto de Expertos sobre aditivos

alimentarios de la OMS y la FAO (JECFA) que definió la ingesta diaria aceptable como “una estimación de la cantidad de aditivo alimentario, expresado por kilogramo de peso corporal, que puede ingerirse diariamente de por vida sin riesgo de salud apreciable” (Cagnasso, 2007).

Los edulcorantes no nutritivos son compuestos elaborados por el ser humano y como su nombre lo dice cuentan con muy bajo o nulo contenido calórico además de que proporcionan una sensación de dulzor similar al azúcar de caña. Los edulcorantes no nutritivos pueden contribuir al control de peso o de glucosa en sangre y a la prevención de las caries dentales así como a prevenir algunas otras enfermedades crónicas degenerativas. La industria alimentaria valora estos edulcorantes por muchos atributos; entre ellos están las cualidades sensoriales, seguridad y compatibilidad con otros ingredientes. A su vez, a igualdad de peso, los edulcorantes no nutritivos poseen mayor poder endulzante que la sacarosa (30 a 3000 veces) y generalmente son más económicos debido a las dosis a las cuales son utilizados.

El edulcorante ideal debe poseer como características un alto grado dulzor, sabor agradable sin resabio amargo, sin color ni olor, solubilizarse rápidamente, ser estable, funcional y económico, no ser tóxico, no provocar caries dentales y ser metabolizado o excretado de forma normal. El mecanismo de acción de los edulcorantes se efectúa en general sobre los receptores presentes en las papilas gustativas mediante estructuras químicas particulares, traduciendo el mensaje neurosensorial en un placer específico. La intensidad edulcorante no puede ser medida en términos absolutos o físicos, sino que requiere el empleo de métodos sensoriales subjetivos, para lo cual se utilizan paneles de evaluación (Giannuzzi y Molina, 1995).

La sacarosa es la referencia y el poder edulcorante de los otros es evaluado con base en las comparaciones relativas. Así es como se estableció que el ciclamato es 30 veces más dulce que la sacarosa y la sacarina 300 veces. La sacarina deja un resabio dulce que perdura con el tiempo y si se emplea en concentraciones altas (1:10000 p/v) el dulzor puede convertirse en amargor.

Las intensidades de dos edulcorantes pueden potenciarse cuando actúan en forma conjunta, pudiendo disminuirse las concentraciones de ambas sustancias al utilizarse en alimentos y bebidas. Reemplazar la sacarosa en alimentos y bebidas por edulcorantes presenta una gran variedad de cambios que deben ser evaluados en términos tecnológicos debido a las diferencias que existe entre ellos, pudiendo destacarse las distintas propiedades, ya sea organolépticas o fisicoquímicas, así como el poder edulcorante, con la posibilidad de ser utilizados en mucha menor concentración (Giannuzzi y Molina, 1995).

En la tabla 2 se muestran los valores de ADI establecidos para los edulcorantes en estudio así como el poder edulcorante respectivo.

Tabla 2.- ADI y poder endulzante de los edulcorantes en estudio.

<b>Nombre</b>	<b>ADI FDA (mg/Kg p.c.- día)</b>	<b>ADI JECFA (mg/Kg p.c.-día)</b>	<b>Poder Edulcorante</b>
Acesulfame de Potasio	15	15	200-250
Aspartame	40	50	160-220
Ciclamatos	No permitidos	11	30-60
Neotame	2	1	6000-8000
Sacarina	5	5	300-500
Estevia	4	4	200-250
Sucralosa	5	15	600

Kg p.c.: Kilogramo de peso corporal

Calzada *et. al.*, 2013; Whitehouse *et. al.*, 2008; Shankar *et. al.*, 2013; Global Stevia Institute, 2015; WHO, 2009.

## **1.4.-USOS Y DOSIS**

Los usos a los que se destinan los diversos edulcorantes están en función de las características fisicoquímicas y organolépticas de los mismos. En cuanto a las dosis se refieren, éstas dependen de la IDA asignada a cada edulcorante así como del producto en el cual vaya a ser utilizado.

Los edulcorantes no nutritivos son utilizados en la Industria Alimentaria con el objetivo principal de disminuir el aporte calórico de los alimentos sin alterar las características organolépticas del mismo, este fin se busca debido a que se pretende llevar al consumidor un producto inocuo y que no contribuya a desarrollar o acrecentar el sobrepeso y la obesidad así como enfermedades crónico degenerativas inherentes a los problemas de salud mencionados. Sin embargo, debido a las características físico-químicas de los edulcorantes no todos pueden ser utilizados en cualquier categoría de alimentos, es por ello que con base en la estabilidad, en la interacción que tienen con la matriz alimentaria, con el pH óptimo de aplicación, en la sinergia que pueden tener con otros edulcorantes, con el resabio amargo que presentan, etc. son destinados a la elaboración de diversos alimentos con el fin de aprovechar de manera óptima sus características.

### **1.4.1.- ASPARTAME**

El perfil de dulzor que imparte el aspartame es altamente aceptado por la población en general. En un estudio sobre la relación entre edulcorantes artificiales y la ingesta de alimentos y saciedad (Non-nutritive sweeteners: review and update), el aspartame resultó mejor avaluado respecto a la *Stevia* y sucralosa (Shankar *et. al.*, 2013). El aspartame alcanza el pico máximo de dulzor en menos de un minuto en bebidas calientes; en líquidos fríos puede tardar hasta 30 a 60 minutos en llegar a su grado máximo de dulzor. En general tiene un resabio ligeramente amargo, cuya intensidad y duración es proporcional a la cantidad ingerida, y disminuye la percepción de sabores ácidos. Mezclado con sustancias alcalinas disminuye su grado de dulzor y su vida media. (Giannuzzi y Molina, 1995). No puede ser utilizado en productos horneados debido a su inestabilidad,

dado que el aumento de la temperatura en el horneado asociado con la humedad provoca la ruptura de la molécula de aspartame dando un metabolito intermediario, la dicetopiperazina.

Sin embargo, el problema de la inestabilidad de este edulcorante a altas temperaturas y altas presiones puede resolverse con la adición de algún otro edulcorante no termosensible, como acesulfame de potasio o sucralosa, al producto durante el proceso de alta temperatura o alta presión. El aspartame está presente en más de 6000 productos alimenticios incluyendo bebidas carbonatadas, bebidas en polvo, gomas de mascar, confitería, gelatinas, postres, yogurt e incluso algunos medicamentos como vitaminas y pastillas para la tos sin azúcar (Lebedev *et. al.*, 2010).

El aspartame suele estar disponible en forma líquida, granulada, encapsulada y en partículas muy finas (polvo), esto con el fin de ampliar el espectro de uso en alimentos. La forma encapsulada presenta como ventaja el uso de este edulcorante en productos horneados debido a la mayor resistencia térmica. Nutra Sweet, Equal y Canderel son los productos de aspartame conocidos en el mercado (Smith, 1993). Las mezclas de aspartame con otros edulcorantes de alta potencia como el ciclamato, acesulfame y sacarina, así como con edulcorantes naturales como la sacarosa y la fructosa son sinérgicas lo que contribuye a reducciones de costos. Además, el aspartame es considerado como no cariogénico (Branen *et. al.*, 2002).

La administración de dosis altas, en un bolo único produce cambios en algunos parámetros bioquímicos, incluyendo niveles de aminoácidos en plasma y de neurotransmisores en el sistema nervioso central. Sin embargo, los estudios de seguridad realizados en ratones, ratas, cobayos y perros así como en humanos (incluyendo lactantes, niños, adolescentes, mujeres lactantes y adultos sanos además de individuos con obesidad, diabetes y heterocigotos para fenilcetonuria) no han mostrado efectos adversos agudos, subagudos ni crónicos de estos

aminoácidos ni de sus productos de descomposición, ni cambios en la fisiología corporal aún a dosis tan altas como 4,000 mg/Kg de peso corporal-día. Tanto la presentación comercial de aspartame para uso de mesa como los productos que lo contienen deben tener en su envase una advertencia que en general señala: “contiene aspartame, su consumo por individuos con fenilcetonuria no es recomendado”. (Calzada *et. al.*, 2013.).

#### **1.4.2.- ACESULFAME DE POTASIO**

El acesulfame de potasio es un edulcorante no calórico conocido comúnmente como *Sunnete*, *Nutra-Sweety Sweet One* (Whitehouse *et. al.*, 2008). El acesulfame K presenta una gran estabilidad en el tiempo, temperatura y pH, por lo tanto su sabor y resabio no cambian en bebidas frías ni calientes, y puede ser utilizado para alimentos que requieren ser horneados. Presenta sabor metálico y amargo a altas concentraciones, pero el umbral de percepción del sabor amargo puede depender del contenido particular del sistema alimenticio en que se encuentra (Giannuzzi y Molina, 1995). Debido a que usado a altas concentraciones presenta un resabio amargo, *Kraft Foods* patentó el uso de ferulato de sodio para enmascarar dicho resabio (Lebedev *et. al.*, 2010).

A diferencia del aspartame, este edulcorante es muy utilizado en productos horneados debido a su gran estabilidad al calor. Actualmente está presente en más de 100 países y más de 5000 productos incluyendo edulcorantes de mesa, postres, budines, productos horneados, refrescos, dulces, productos lácteos, alimentos enlatados y bebidas alcohólicas (Shankar *et. al.*, 2013).

Este edulcorante posee una vida útil muy larga por lo que es ideal para su uso en dulces, alimentos enlatados y bebidas alcohólicas. Otro aspecto importante del acesulfame de potasio es su capacidad de permanecer estable en cuanto a estructura química y sabor a tratamientos térmicos como pasteurización. Procesos a los cuales son sometidos productos lácteos (con variabilidad de temperatura y pH) (Lebedev *et. al.*, 2010).

Generalmente es utilizado en conjunción con otros edulcorantes artificiales (aspartame y sucralosa en su mayoría) con el fin de mejorar el perfil de sabor de los productos además de buscar disminuir las cantidades de edulcorantes en los productos finales. Debido a la preocupación de una posible sinergia en cuanto a efectos genotóxicos cuando se mezclan varios edulcorantes, se realizaron estudios en ratas no encontrando efectos adversos (Shankar *et. al.*, 2013). Es empleado en conjunción con otros edulcorantes, mezclas acesulfame/aspartame 1:1, acesulfame/ciclamato 1:1, observándose efecto sinergista en la percepción del sabor (Giannuzzi y Molina, 1995).

#### **1.4.3.- SACARINA**

Este edulcorante es comercializado como *Sweet'N Low*, *Sugar Twiny*, *Necta Sweet*, y es utilizado como edulcorante no calórico en la producción de bebidas carbonatadas, productos horneados, mermeladas, goma de mascar, caramelos, frutas enlatadas, postres, además también es utilizado en productos cosméticos como pasta dental, brillos labiales y enjuague bucal así como en vitaminas y algunos medicamentos (Whitehouse *et. al.*, 2008). Se ha demostrado sinergia con fructosa, aspartame, ciclamatos y sucralosa, sin embargo se observa una ligera disminución del poder edulcorante cuando se utiliza con acesulfame de potasio (Ashurst, 2008)

La sacarina sódica es un polvo blanco incoloro y muy soluble en agua y extremadamente estable, con un peso molecular de 241,19 Da. Es estable en una gran variedad de productos comestibles bajo condiciones extremas de procesamiento. A elevadas concentraciones puede dejar un cierto sabor residual amargo, pero éste se elimina cuando se asocia al ciclamato o a otras sustancias edulcorantes. Es estable al pH ácido y altas temperaturas por lo que es muy indicado en aplicaciones como productos horneados y alimentos que requieren un tratamiento a temperaturas elevadas. La mezcla aspartamo/sacarina es empleada en tabletas o en bebidas dulces, frutas procesadas, confituras, gomas de mascar y salsas (Giannuzzi y Molina, 1995).

La sacarina no es metabolizada en el tracto gastrointestinal de los humanos por lo tanto no afecta los niveles de insulina en sangre tras su ingestión, esta característica lo hace muy útil para la elaboración de productos alimenticios dirigidos a pacientes con Diabetes (Shankar *et. al.*, 2013).

#### **1.4.4.- SUCRALOSA**

El perfil de dulzor de la sucralosa es muy similar al de la sacarosa. Este edulcorante presenta sinergia con acesulfame de potasio, ciclamato, sacarina y *Stevia*. Cuando es mezclado con aspartame muestra una ligera disminución del dulzor. Comúnmente es comercializada como *Splenda*. Además no es metabolizada por los humanos y es pobremente absorbida por el intestino delgado (Ashurst, 2008).

La sucralosa es uno de los edulcorantes artificiales más estables disponibles en el mercado actual y se puede utilizar en una gran variedad de productos alimenticios. La sucralosa se sintetiza a partir de la sacarosa y por lo tanto es muy similar a ella en su estructura química y reactividad. Además es significativamente más estable que el aspartame (edulcorante no calórico muy estable) permitiendo una vida útil significativamente más larga sin pérdida de dulzor del producto final (Lebedev *et. al.*, 2010).

Los tres cloros presentes en la estructura de la sucralosa le confieren la característica de ser resistente al calor, por lo que los alimentos que la contienen se pueden cocer, asar y hornear sin que se pierda su característica edulcorante. A pH ácido o en bebidas carbonatadas es muy estable, se hidroliza muy lentamente a monosacárido, no interactúa con los componentes del alimento y no deja sabor amargo, dejando un perfil-tiempo intensidad similar a la sacarosa. La sucralosa no modifica la expresión ni la función del receptor GluT-2 o la absorción intestinal de glucosa a nivel intestinal, la concentración plasmática ni la función del péptido similar a glucagon GLP-1, ni el control del apetito o de saciedad (Chang *et. al.*, 2009).

Además de tener la ventaja de no presentar un resabio desagradable (como muchos otros edulcorantes no calóricos) numerosas pruebas han demostrado una excelente seguridad del perfil toxicológico de este edulcorante por lo que es usado por toda la población en general (Shankar *et. al.*, 2013).

#### **1.4.5.- CICLAMATOS**

Los ciclamatos consisten en tres formas químicas relacionadas: ácido ciclámico, ciclamato y ciclamato de sodio. Generalmente se utilizan en combinación con otro edulcorante para mejorar su aceptación al reducir el sabor ligeramente amargo que producen ya que algunos individuos afirman la presencia de un resabio posterior a su ingesta. La forma más común es una mezcla de diez partes de ciclamato por una de sacarina. Debido a que usualmente se utilizan como sal sódica o cálcica son muy solubles en agua, dado su uso como sales son termoestables aunado a su gran estabilidad a pH ácidos. Por estas razones son muy utilizados en bebidas carbonatadas, alimentos cocidos, horneados o que serán sometidos a algún tratamiento térmico como productos lácteos, alimentos enlatados, etc. (Calzada *et. al.*, 2013.).

La mezcla de 10 partes de ciclamato por una parte de sucralosa es muy sinérgica ya que se obtiene un dulzor por encima de lo esperado. El ciclamato tiene una vida útil muy larga además de ser estable a un gran intervalo de temperaturas por lo que es ideal para su uso en alimentos tratados térmicamente y congelados. Se usa en la elaboración de bebidas bajas en calorías y productos lácteos. También puede ser utilizado como potenciador de sabores salados a bajas dosis así como aromatizante (Lebedev *et. al.*, 2010).

En cuanto a la percepción del gusto dulce de este edulcorante, ésta es tardía además de persistir durante más tiempo y de presentar un ligero resabio ácido. A pesar de que se considera que tiene un poder edulcorante 30-60, el dulzor relativo del ciclamato tiende a descender a altas concentraciones. Por ejemplo, tiene un poder edulcorante de 40 comparado con una disolución de sacarosa al 2%, pero

en relación a una solución del 20% de sacarosa sólo es 24 veces más dulce que la sacarosa. Esta tendencia se le atribuye al hecho de que el ciclamato a concentraciones elevadas presenta resabios amargos (Brien, 2001).

#### **1.4.6.- NEOTAME**

La FDA aprobó el neotame en 2002, generalmente con el propósito de proporcionar dulzor a los alimentos excluyendo su uso en carne y animales de corral. Este edulcorante se puede encontrar en productos horneados, refrescos, gomas de mascar, postres congelados, mermeladas, frutas enlatadas, sopas, etc. (Whitehouse *et. al.*, 2008).

El neotame se caracteriza por dejar un ligero resabio a licor cuando es utilizado como único edulcorante en la matriz alimenticia o cuando es empleado a altas concentraciones. Cuando es combinado con otros edulcorantes dicho resabio se ve disminuido en gran medida. Al ser derivado de un aminoácido es hidrolizado bajo condiciones de pH bajos o muy altos y su estabilidad estará en función del pH, temperatura y del tiempo. Puede ser empleado en productos sometidos a ultrapasteurización ya que no se ha encontrado una degradación significativa del neotame (Ashurst, 2008).

Es un edulcorante de alta potencia que se puede utilizar para endulzar alimentos y bebidas, también se puede modificar o mejorar el sabor cuando se usa a niveles no edulcorantes (0-5 mg/Kg de alimento). Al igual que el aspartame y otros edulcorantes de alta intensidad, el poder edulcorante del neotame es dependiente de la concentración y puede variar dependiendo del producto alimentario en que es utilizado. Como ingrediente seco, el neotame tiene una excelente estabilidad y funciona de buena manera en productos terminados secos como las bebidas en polvo. La cinética de degradación es una pseudo reacción de primer orden, cuya velocidad en solución depende de la relación pH-tiempo-temperatura. El neotame es funcional como endulzante en bebidas carbonatadas, particularmente cuando los valores de pH tienen un rango entre 3.2 y 4.5 (Ramírez, 2003).

#### **1.4.7.- ESTEVIA**

Recientemente este edulcorante, extraído de la planta *Stevia Rebaudiana Bertoni*, se ha utilizado en productos horneados y bebidas carbonatadas (Shankar *et. al.*, 2013). Cuando es empleado como único edulcorante no calórico a altas concentraciones puede generar un resabio “alcorado” por lo que generalmente se acompaña de algún otro edulcorante como aspartame, sucralosa o fructosa. En cuanto a estabilidad, los extractos de *Stevia suelen ser muy estables*, ya que se han realizado pruebas en donde se observa que estos son estables durante 5 meses a temperatura ambiente en bebidas carbonatadas (Ashurst, 2008).

En la tabla 4 se mencionan algunas de las características más importantes que poseen los edulcorantes para su aplicación en alimentos.

Tabla 4.- Características de los edulcorantes en estudio para su aplicación en alimentos.

<b>Nombre</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Limitaciones</b>
Acesulfame de Potasio	Estable al calor. Estable a pH. Sinergia con otros endulzantes. Intensifica el sabor.	Concentraciones elevadas dejan un sabor residual (1000 ppm).
Aspartame	No deja sabor residual. No altera el índice glucémico. Sinergia con otros edulcorantes.	Termosensible. Pierde dulzor y vida media a pH alcalino. No se recomienda para Fenilcetonúricos.
Ciclamatos	Termoestable. Sabor agradable Sinergia con otros edulcorantes.	Se recomienda su uso bajo prescripción médica. Ligero resabio amargo.
Neotame	Termoestable. Muy soluble. Sinergia con otros edulcorantes.	Poco estable a pH básicos.
Sacarina	Termoestable. No altera el índice glucémico. Sinergia con otros edulcorantes.	Deja sabor residual. Alto costo.
Estevia	Termoestable. Resistente a hidrólisis ácida No fermentable. Inodoro. Papel potencial en la regulación de hipertensión arterial.	Deja sabor residual. Uso en pacientes con Diabetes Mellitus aún se encuentra en estudio.
Sucralosa	Termoestable. Estable a cambios de pH. No altera índice glucémico. Sinergia con otros edulcorantes.	Resabio dulce. Puede producirse hidrólisis parcial.

Furia, 1996; Ashurst, 2008; Brien, 2001; Echavarría-Almeida, 2012; Giannuzzy y Molina, 1995; Mitchell, 2006.

La tabla 5 (ANEXO I) muestra las dosis máximas permitidas de los edulcorantes en estudio para las diversas categorías de alimentos en los que son empleados principalmente.

### **1.5.- LEGISLACIÓN**

La industria de alimentos está regulada por diversas instituciones según la zona geográfica en donde se localice. De esta manera existen organizaciones encargadas de vigilar y asegurar la inocuidad de los alimentos con base en la regulación de ingredientes, materias primas y aditivos que se usan en la elaboración de los productos alimenticios.

La Secretaría de Salud (SS) es la responsable de las normativas de aditivos alimentarios en México, por otra parte la FDA (Food & Drug Administration) hace lo propio en Estados Unidos de Norteamérica mientras que la UE (Unión Europea) legisla los aditivos en Europa. En la tabla 6 se muestran los siete edulcorantes de mayor importancia en la industria de alimentos así como su regulación por la SS, FDA y la UE.

Tabla 6.- Regulación de los principales edulcorantes de alta intensidad utilizados en la industria de alimentos

<b>Edulcorante</b>	<b>SS</b>	<b>FDA</b>	<b>UE</b>
Stevia	P	P	P
Acesulfame de potasio	P	P	P
Aspartame	P	P	P
Sucralosa	P	P	P
Neotame	P	P	P
Ciclamato	P	NP	P
Sacarina	P	P	P

P: Permitido      NP: No Permitido

Fuente: Unión Europea, 2009; Benites, 1998; Food & Drug Administration, 2014.

En la tabla 6 se puede observar que la mayoría de los edulcorantes en estudio son aceptados por las tres Instituciones encargadas de regular el uso de aditivos en México, E.U.A. y en Europa, salvo por el ciclamato que no es permitido por la FDA. Esto se debe a que aún existe discrepancia entre diversos autores sobre el posible riesgo que existe de desarrollar cáncer de vejiga al consumir este edulcorante (JECFA, 1982).

La FAO y la OMS promueven la aplicación de la evaluación de riesgos en todas las cuestiones relacionadas con la inocuidad de los alimentos. La base debe ser el asesoramiento científico y las pruebas facilitadas por grupos de expertos competentes e independientes. La evaluación de riesgos es uno de los componentes del análisis de riesgos, los otros dos serían la gestión de riesgos y la comunicación de riesgos.

La Comisión define la evaluación de riesgos como un proceso de base científica que consta de las siguientes cuatro etapas: i) identificación del peligro; ii) caracterización del peligro; iii) evaluación de la exposición, y iv) caracterización del riesgo. El proceso de evaluación de riesgos es un medio que sirve para proporcionar un cálculo de la probabilidad y la gravedad de la enfermedad que se atribuye a determinada combinación de patógenos-productos. El proceso de cuatro etapas puede realizarse en forma sistemática, pero la medida en que se lleven a cabo esas cuatro etapas dependerá del alcance de la evaluación de riesgos, cuyo gestor puede establecer claramente a través del diálogo constante con el responsable de la evaluación de riesgos.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) es un comité científico internacional de expertos administrado conjuntamente por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Este Comité se ha reunido desde 1956, inicialmente para evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios. Su trabajo incluye la evaluación de los contaminantes, de las sustancias tóxicas naturalmente presentes en los alimentos. Hasta la fecha, el JECFA ha evaluado más de 1 300 aditivos alimentarios, aproximadamente 25 contaminantes y

sustancias tóxicas naturalmente presentes en los alimentos. El Comité ha elaborado también principios para evaluar la inocuidad de los productos químicos presentes en los alimentos que son compatibles con los actuales criterios sobre evaluación de riesgos y tiene en cuenta la evolución reciente de la toxicología y otras ciencias pertinentes.

Todos los países necesitan tener acceso a evaluaciones fiables de riesgos de las sustancias químicas utilizadas en los alimentos, pero relativamente pocos cuentan con los conocimientos y los fondos necesarios para hacer evaluaciones individuales sobre riesgos del gran número de productos químicos. El JECFA cumple una función vital al proporcionar una fuente adecuada de asesoramiento de expertos, y algunos países utilizan la información del JECFA para elaborar sus propios programas de reglamentación.

Para los aditivos alimentarios, los contaminantes y las sustancias tóxicas naturalmente presentes en los alimentos, el Comité:

- Establece principios para evaluar su inocuidad;
- Realiza evaluaciones toxicológicas y establece ingestiones diarias admisibles (IDA) o ingestiones tolerables;
- Prepara especificaciones relativas a la pureza de los aditivos alimentarios;
- Evalúa las dosis de ingestión.

(FAO/OMS, 2013)

## **CAPÍTULO 2.- CONTROVERSIA SOBRE LA ASOCIACIÓN DE ENFERMEDADES Y LA INGESTA DE EDULCORANTES NO CALÓRICOS**

### **2.1.- CÁNCER**

El papel de los edulcorantes no calóricos en cuanto al posible riesgo de desarrollar cáncer por su ingestión ha sido fuertemente debatido desde la década de los 70's, cuando se comenzaron a realizar estudios en más de una generación de roedores tratados con dosis elevadas de sacarina y su posible relación con el desarrollo de cáncer de vejiga así como también se debatieron algunos estudios epidemiológicos encontrando alguna asociación con el riesgo de cáncer de vejiga en seres humanos. Sin embargo, cuando se trataron de reproducir dichos resultados en estudios epidemiológicos más grandes sometiendo a humanos a elevadas concentraciones de sacarina se demostró que no había asociación alguna entre el cáncer de vejiga, la formación de cálculos en el tracto urinario o lesiones epiteliales y la ingesta de este edulcorante. Así, se observó que el metabolismo de la sacarina era dependiente de la especie (Gallus *et. al.*, 2006)

Algunos de los edulcorantes pueden no ser bien digeridos, causar trastornos digestivos u otras irregularidades metabólicas (Furia, 1996), es por ello que desde el uso de los edulcorantes no nutritivos como sustitutos de azúcar en la dieta humana, se ha generado una gran controversia sobre el posible riesgo de desarrollar algún tipo de cáncer debido a la ingesta de éstos. De manera general, se atribuyen algunos casos de tumores vesicales benignos y malignos, cáncer cerebral y tumores tiroideos al consumo excesivo de edulcorantes no calóricos. Estas imputaciones se realizaron a partir de resultados obtenidos en estudios elaborados con ratas de laboratorio sometidas a dietas con altas dosis de estos aditivos. (Soffritti, *et. al.*, 2006. Takayama, *et. al.*, 2000. Tisdell, 1974). Sin embargo, también existen diversos estudios que aseguran los edulcorantes no son tóxicos ya que se realizaron pruebas de mutagenicidad resultando negativos y, además aseguran no ser metabolizados por el hombre (JECFA, 1985,1989, 1999).

La mayoría de los estudios epidemiológicos inherentes al cáncer y a la ingesta de edulcorantes artificiales se han centrado en el riesgo de desarrollar cáncer de vejiga y en el cerebro (Gallus *et. al.*, 2006). Se han llevado a cabo estudios en ratones y, extrapolando los resultados a humanos se observó que la posibilidad de desarrollar cáncer de vejiga (sólo en hombres) a aumentado 1.3 veces cuando se ingieren cantidades mayores de 1680 mg de sacarina por día. Además, se ha demostrado que los cánceres de vejiga inducidos por el consumo de ciclamato y de sacarina en roedores es inherente a la especie, ya que en los humanos estos efectos no se observaron (Weihrauch& Diehl, 2005).

Al menos en siete estudios de caso-control de cáncer de vejiga o cáncer en el tracto urinario en Estados Unidos, no encontró asociación significativa entre el consumo de edulcorantes no calóricos y dichos problemas de salud (Gallus *et. al.*, 2006).

## **2.2.-DAÑOS AL SISTEMA DIGESTIVO**

El aparato digestivo está formado por el tracto digestivo, una serie de órganos huecos que forman un largo tubo que va de la boca al ano, y otros órganos que ayudan al cuerpo a transformar y absorber los alimentos. Los órganos que forman el tracto digestivo son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso (también llamado colon), el recto y el ano. El interior de estos órganos huecos está revestido por una membrana llamada mucosa. La mucosa de la boca, el estómago y el intestino delgado contiene glándulas diminutas que producen jugos que contribuyen a la digestión de los alimentos.

El tracto digestivo también contiene una capa muscular suave que ayuda a transformar los alimentos y transportarlos a lo largo del tubo. Otros dos órganos digestivos, el hígado y el páncreas, producen jugos que llegan al intestino a través de pequeños tubos llamados conductos. La vesícula biliar almacena los jugos digestivos del hígado hasta que son necesarios en el intestino. Algunos componentes de los sistemas nervioso y circulatorio también juegan un papel importante en el aparato digestivo (National Digestive Diseases Information Clearing House, 2008).

Una enfermedad asociada a la ingesta de edulcorantes no calóricos es el Síndrome de Intestino Irritable (SII), el cual es un trastorno intestinal funcional en el que la defecación se acompaña de dolor o molestia abdominal o alteraciones del hábito del movimiento intestinal. Es frecuente que se acompañe de hinchazón, flatulencias, distensión y alteraciones de la defecación (Quigley et. al., 2009).

Sin embargo, un artículo publicado en la Revista de Gastroenterología de México (Prevalencia y caracterización de los subtipos de SII según los criterios de Roma III, en un estudio clínico, multicéntrico. Reporte del grupo mexicano de estudio para el SII) señala que los edulcorantes no son causales importantes identificados por los pacientes en estudio (Schmulson et. al., 2010). La tabla 8 muestra la frecuencia de los alimentos reportados en asociación con el incremento de los síntomas del SII:

Tabla 8.- Frecuencia de alimentos (en orden descendente) reportados en asociación con el incremento de los síntomas del SII

	<b>SII- Estreñimiento</b>	<b>SII- Diarrea</b>	<b>SII-Mixto</b>	<b>SII-No Clasificable</b>	<b>Total</b>
<b>Alimentos</b>	<b>% de pacientes que presentaron síntomas de la enfermedad respectiva</b>				
Grasas	69.6	78.8	72.5	75.6	71.7
Picantes	68.0	71.8	71.0	20.7	69.7
Condimentos	67.0	66.1	67.8	70.7	67.4
Leguminosas	55.8	46.4	59.2	53.6	56.9
Bebidas c/gas	56.7	43.6	53.6	58.5	54.6
Lácteos	45.5	59.2	54.3	43.9	50.4
Cereales y/o harinas	24.4	25.3	22.2	17.0	23.2
Edulcorantes	4.71	5.63	3.96	0	4.25
Total de pacientes (100 %)	594	71	656	41	1362

\*Se muestran los análisis de respuesta múltiple. Los porcentajes corresponden al número de respondedores. Este análisis sólo se realizó con 1362 (80.4%) de los sujetos. Fuente: Schmulson et. al., 2010.

Por lo anterior se podría decir que este trastorno es inherente al tipo de dieta que consumen los individuos, siendo los lípidos y los alimentos con alto contenido de *capsicum* los principales promotores del SII, mientras que los edulcorantes podrían considerarse no relacionados con dicha enfermedad (Schmulson et. al., 2010).

### **2.3.- ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS**

Existe una gran controversia sobre el posible efecto negativo en el sistema nervioso central que produce la ingesta de alimentos *light* que sustituyen al azúcar de caña por aspartame como edulcorante. Esto debido a que tras la ingestión del aspartame, el cuerpo humano lo metaboliza en ácido aspártico, fenilalanina y metanol. La fenilalanina es un aminoácido esencial ya que el humano no es capaz de sintetizarlo y por tanto debe ser ingerido mediante la dieta. Cuando este aminoácido esencial se encuentra en niveles elevados en sangre inhibe a dos enzimas importantes en el metabolismo de la glucosa, la hexoquinasa y la pirúvico quinasa; de este modo disminuye el aporte energético al cerebro (Rivas, 2003).

Además, el exceso de fenilalanina puede competir con otros aminoácidos en el transporte a través de la barrera hematoencefálica y dar lugar al agotamiento de algunos metabolitos imprescindibles para el óptimo funcionamiento del sistema nervioso central (Rivas, 2003). Sin embargo, estos efectos sólo se han observado en individuos que padecen de fenilcetonuria (enfermedad en la cual el paciente es incapaz de sintetizar la enzima fenilalanina hidroxilasa por lo que el organismo no es apto para metabolizar a la fenilalanina y por tanto los niveles de este aminoácido en el cuerpo son elevados, trayendo consigo diversas complicaciones a la salud) (Bergstrom *et. al.*, 2008)

A pesar de que se ha considerado al aspartame como inocuo, en las últimas décadas su uso como edulcorante ha sido muy controversial. Tanto que se han llevado a cabo numerosos estudios en diferentes especies animales con el fin de determinar el riesgo que conlleva la ingestión del mismo. Diversos estudios (Columbe, 1996; Bergstroem *et. al.*, 2008; Calderón *et. al.*, 2008) han reportado de manera particular que los aminoácidos en los cuales es metabolizado (fenilalanina y ácido aspártico) actúan de manera individual o combinada en el sistema nervioso central (SNC) provocando efectos adversos que incluyen alteraciones neuronales, desórdenes conductuales y enfermedades neurodegenerativas.

Si bien, no se han determinado los mecanismos de acción del aspartame o sus metabolitos en estos eventos, se ha descrito que la función de ambos aminoácidos en el SNC es de tipo excitador y que el incremento plasmático de ambos aminoácidos provenientes de la ingesta de alimentos y bebidas elaborados con este edulcorante, ocasiona sobre-excitación neuronal debido a la entrada de iones  $\text{Ca}^{2+}$  en la célula, favoreciendo una cascada de reacciones con generación de radicales libres. El mecanismo de daño celular de los radicales libres se atribuye a los procesos de lipoperoxidación, los cuales son en particular destructivos y acentuados, ya que alteran la fluidez, permeabilidad y por último la función metabólica de la célula (Columbe, 1996).

La producción de radicales libres debida a procesos de degradación y/o lipoperoxidación de metabolitos o compuestos exógenos puede ocurrir tanto en la fase oxidativa (fase I) como en la fase de conjugación (fase II) del metabolismo. Aunque el SNC cuenta con sistemas enzimáticos antioxidantes el nivel es moderado, por lo que la presencia de los sistemas antioxidantes no enzimáticos, cuya protección se basa en la transferencia de electrones, que es fundamental para el equilibrio redox en la célula. Debido a la localización y concentración en las células de los mamíferos y a su importante participación en los procesos de neutralización de radicales libres, los niveles celulares de glutatión se han utilizado como un indicador de estrés oxidativo conjuntamente con la evaluación de la integridad lipídica debido a que la lipoperoxidación es un proceso en que los sistemas biológicos puede ocurrir mediante control enzimático o no enzimático, y es el último proceso que acompaña a la lesión celular.

Por este motivo, diversos estudios han intentado establecer el riesgo neuronal que existe al consumir aspartame mediante la evaluación del estrés oxidativo causado por dicho edulcorante así como de sus metabolitos tomando como parámetros los niveles de glutatión y del ácido tiobarbitúrico (Calderón et. al., 2008).

## **2.4.-ATROFIA TESTICULAR**

La atrofia testicular es una enfermedad que se ve reflejada en una disminución del tamaño de los testículos por obliteración de los canalículos testiculares y aumento del tejido conjuntivo. La atrofia testicular puede reducir o detener el funcionamiento normal de los testículos y causar problemas de fertilidad e, incluso, la esterilidad del paciente. Es causada principalmente por enfermedades o patologías genéticas o infantiles, infecciones crónicas o que hayan lesionado el testículo como orquitis o epididimitis, causas tóxicas como el alcoholismo crónico o algunas drogas, anemia crónica o el cáncer testicular. La ingesta de esteroides anabolizantes es también una causa frecuente y reconocida de atrofia testicular (Sandritter, 1991).

Mucho se ha hablado del posible riesgo de desarrollar esta enfermedad al consumir en exceso ciclamato de sodio como sustituto de azúcar. En 1958 los ciclamatos fueron considerados como aditivos GRAS sin embargo, estudios realizados en los 60's demostraron que su ingesta producía alta presión sanguínea, atrofia testicular, mutagenicidad, así como daños en cromosomas en animales de laboratorio. Por esta razón la FDA los eliminó en 1969 de la lista de los aditivos GRAS (Valdés, 2009).

Entre los metabolitos del ciclamato de sodio se encuentra la ciclohexilamina, que jugó un rol importante en el año 1969 cuando varias publicaciones informaron acerca del efecto de este metabolito en la producción de cáncer de vejiga en ratas (de Bethizy, 1999). La ciclohexilamina se origina mediante la hidrólisis del ciclamato en el intestino por acción de la microbiota intestinal, posee un carácter más lipofílico que el ciclamato, pudiendo ser fácilmente absorbido por el intestino (Giannuzzi, 2005). Algunos estudios de toxicidad realizados con ratas (macho) y perros (macho) afirman que la ciclohexilamina es causante de atrofia testicular y alteración de la espermatogénesis (Renwick et al., 1999).

Aunado a lo anterior, se realizó un estudio de toxicidad a largo plazo con ciclamato ingerido por primates en donde 21 monos fueron alimentados con 100 o 500 mg ciclamato/kg de peso corporal-día por más de 24 años, y se compararon con 16

controles. Los autores concluyeron que no hay evidencia de carcinogenicidad ni de atrofia testicular por la ingesta del ciclamato de sodio (Takayama, S. et. al., 2000).

Serra-Majem *et al.*, realizaron en 2003 un estudio en donde se administraron dosis de 0.64 -1.2 mg de ciclamato/kg p.c.-día a hombres sanos, demostró que a dichas concentraciones de este edulcorante (consideradas dosis elevadas) no existe relación alguna entre la ingesta de ciclamato y el riesgo de desarrollar atrofia testicular. También se observó que los individuos con este trastorno tienden a ingerir, además de ciclamato y sacarina (razón por la cual se trataba de establecer un vínculo edulcorantes artificiales-atrofia testicular), cantidades excesivas de bebidas alcohólicas y de lípidos.

# **CAPÍTULO 3.- METABOLISMO Y TOXICOLOGÍA DE LOS PRINCIPALES EDULCORANTES NO CALÓRICOS UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS**

## ***3.1.- GENERALIDADES***

Algunos edulcorantes son dipéptidos (aspartame, neotame) por lo que son metabolizados como proteínas. Las proteínas exógenas (ingeridas en la dieta) son metabolizadas en el aparato digestivo mediante acción de una serie de enzimas proteolíticas, proteasas y peptidasas que las degradan hasta sus aminoácidos constituyentes para que sean absorbidos en el intestino, y a través del torrente sanguíneo lleguen a todas las células del organismo. En el mismo sentido, las rutas degradativas de los aminoácidos conllevan la separación del grupo amino y la oxidación total del resto de la molécula (denominado esqueleto carbonado) hasta CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Este camino catabólico sólo se realiza cuando los aminoácidos no son necesarios para la síntesis, cuando hay un exceso debido a una ingesta elevada, o bien cuando por ayuno o por alteraciones en el metabolismo se convierten en el único material combustible accesible (López, 2001).

El aspartame es metabolizado en el intestino delgado por enzimas denominadas enterasas y peptidasas que hidrolizan a este edulcorante en ácido aspártico, fenilalanina y metanol en una proporción de 40, 50 y 10% de la concentración inicial de aspartame, respectivamente. El metabolismo oxidativo de esta molécula aporta 4 Kcal/g, sin embargo las dosis a las que son ingeridas el aporte calórico es prácticamente nulo. Dosis altas en un único bolo produce cambios en algunos parámetros bioquímicos como la concentración de algunos aminoácidos en plasma, pero algunos estudios realizados en ratones, ratas, cobayos, perros y humanos (incluyendo lactantes, niños, adolescentes, mujeres lactantes y adultos sanos) no muestran efectos agudos, subagudos ni crónicos de éstos aminoácidos ni de sus productos de descomposición (Lavalle, 2008).

Se realizaron diversos estudios en diferentes especies animales (Chang *et. al.*, 2009; Finn & Lord, 2000; JECFA, 1989; JECFA, 1988) así como en humanos, en donde se observaron diferencias entre la cantidad de sucralosa que es absorbida y la especie en estudio, aunque en general era absorbida en el intestino delgado de forma pasiva y limitada. Se observó que en el ser humano la absorción se encuentra en el rango de 11-27%. La mayoría de este edulcorante se elimina por las heces sin mostrar modificaciones, y el pequeño porcentaje que fue absorbido se excreta por orina sin cambios (excepto pequeñas cantidades de metabolitos) a las 24 horas. La eliminación total se completa entre los 2 y 3 días. Debido a la alta afinidad de la molécula de sucralosa por el agua, la bioacumulación es muy poco probable.

Las pequeñas concentraciones de este edulcorante que pasa a la circulación son distribuidas a través de la sangre a todos los tejidos. No hay un transporte activo de la sucralosa a través de la barrera hematoencefálica al sistema nervioso central, a través de la barrera placentaria o desde las glándulas mamarias a la leche en el caso de las mujeres o hembras embarazadas (Manchero, 2011).

Al ingerir los esteviósidos presentes en la planta de *Stevia Rebaudiana*, un porcentaje es absorbido en el intestino y degradado a steviol y el resto es metabolizado por la flora intestinal sin que se hayan demostrado efectos secundarios adversos por lo que su uso como edulcorante no calórico no tiene contraindicaciones. El resto de los edulcorantes en estudio como el acesulfame y la sacarina se absorben en el intestino delgado y son excretados por vía renal sin ser metabolizados, por lo que no producen energía oxidativa (Lavalle, 2008). Después de la absorción, el acesulfame se excreta sin cambios a través de la orina. No hay evidencias de que se acumule en el organismo, ya que en algunos ensayos sobre el metabolismo de este compuesto se demostró que no había metabolitos en las excretas de ratas, perros, cerdos y humanos (Durán, 2013).

Durante el metabolismo de los ciclamatos se produce un metabolito llamado ciclohexilamina (CHA) la cual se origina por actividad bacteriana en el intestino grueso, a partir del ciclamato no absorbido. La fracción absorbida, 37%, se excreta

por vía renal sin cambios metabólicos y, por tanto, el restante 63% está disponible para la conversión, por parte de la flora intestinal, en CHA. La variación observada extra e intra individual en la conversión de ciclamato a CHA se considera relacionada con los cambios en la flora intestinal. Se ha estimado que la tasa de transformación del ciclamato no absorbido a ciclohexilamina es de 30%, lo que significa que del ciclamato total ingerido se transforma a CHA el 18,9%.

La excreción urinaria de ciclohexilamina es extremadamente variable de individuo a individuo y presenta gran fluctuación entre un día y otro. La prevalencia de las personas que convierten ciclamato a CHA parece ser entre 10-30% de la población, según estudios realizados. La mayoría son convertidores de entre 0,1% a aproximadamente el 8% del ciclamato ingerido. Un número relativamente reducido de individuos puede convertir hasta un 60% del ciclamato ingerido en CHA. Varios estudios indican que la conversión del ciclamato a CHA es inversamente proporcional a la dosis ingerida. Cuando la dosis de ciclamato es de 5,0 gr., el 0,6% se convierte a CHA, mientras que cuando la dosis ingerida fue de 1 gr., el 13,4% es metabolizado a CHA (Lux, 2011).

### ***3.2.- ESTUDIOS DE TRAYECTORIA METABÓLICA Y TOXICIDAD***

Debido al crecimiento demográfico, la producción en masa de alimentos y bebidas es cada vez más común, además de buscar nuevas alternativas para sustituir ciertas materias primas con el fin de disminuir costos, tener volúmenes mayores de producción, etc. Sin embargo, para asegurar la inocuidad de los alimentos se busca eliminar todos los factores de riesgo antes de la producción alimenticia.

Los agentes xenobióticos entran al organismo por alguna vía de administración/absorción. Las principales vías de exposición para que este mecanismo se lleve a cabo son la cutánea, inhalación y la vía oral. Esta última es

la de mayor importancia en el caso de alimentos. Dado la importancia que representa la evaluación de cualquier agente xenobiótico es necesario conocer la trayectoria metabólica que este sigue a través del organismo así como entender los factores inherentes a su absorción, la distribución que tienen en el cuerpo humano, los órganos encargados de su metabolismo, la vía o vías de eliminación, los cambios estructurales que sufre a través del metabolismo y las posibles alteraciones fisiológicas que podría representar su ingesta.

Los estudios de trayectoria metabólica son aspectos muy importantes a considerar en cuanto a aditivos alimentarios. Sin embargo, dichas evaluaciones metabólicas presentan dificultades considerables para ser llevadas a cabo. Por ejemplo, los períodos de exposición al agente xenobiótico son prolongados (pueden tardar hasta 10 años), se necesitan estudios en varias especies para encontrar la que tiene el metabolismo más semejante al humano y así poder relacionarlo, costos, etc.

Procesos de absorción, distribución, conversión metabólica y excreción de la sustancia, son aspectos a considerar en los estudios del metabolismo, ya que cuando un xenobiótico es absorbido se distribuye a distintos tejidos y órganos del cuerpo. La fase de distribución inicial, la tasa de penetración de la sustancia a través de las membranas, así como los sitios disponibles para la fijación, son los factores predominantes que influyen en la distribución de dicha sustancia en el organismo. Sin embargo, también existe la posibilidad de que el xenobiótico no sufra alteraciones estructurales, que se excrete sin ningún cambio, o bien, se obtengan metabolitos. La orina, heces, sudor, el aire expirado, la saliva, bilis y la leche (en caso de hembras mamíferos) son las principales vías de excreción.

La transformación metabólica es el proceso en el cual una sustancia es convertida a otras sustancias (metabolitos) a través de su paso por el organismo. Generalmente el hígado es el sitio en donde se lleva a cabo esta conversión catalizada por diversas enzimas. Aunque también existen otros órganos y tejidos encargados de esta función, como el aparato digestivo, los riñones, pulmones, la placenta e incluso la sangre, para cada sustancia hay una vía específica. Éstas

pueden ocurrir por varias vías en reacciones múltiples y simultáneas, compuestas de una serie de reacciones oxido-reductoras e hidrólisis donde la secuencia predominante del tipo de reacciones o vías metabólicas estará determinada por diversos factores como la dosis de la sustancia química, especie, sexo, edad y ciertas variables ambientales (WHO, 1985).

### **3.2.1.- CICLAMATO**

El ciclamato tiene una baja absorción en el tracto gastrointestinal. En un estudio realizado con 200 individuos se observó que se absorbe aproximadamente el 37% de la dosis ingerida. Además, una vez absorbido el ciclamato es excretado sin cambios a través de la orina, aunque se observaron trazas de ciclohexilamina (O'Brien, 2001).

Durante las décadas de los 60's, 70's y la primera mitad de los 80's, los estudios relacionados con la ingesta de las sales de sodio y calcio del ciclamato así como el metabolismo de la ciclohexilamina (CHA) fueron el foco de atención del Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA). Sin embargo, no fue sino hasta 1982 cuando el Comité dio a conocer los resultados obtenidos de los posibles riesgos representados por la ingesta de CHA sobre la reproducción en ratones, aunado a lo anterior, también determinó el grado de conversión de las sales de ciclamato a ciclohexilamina durante el metabolismo en el organismo humano. En ese mismo año se modificó la ingesta diaria aceptable (ADI) para el ciclamato, la cual quedó regulada por 11mg ciclamato/kg p.c.-día.

JECFA llevó a cabo la revisión de diversos estudios (JECFA, 1982) con el fin de determinar la toxicidad del ciclamato y sus sales de potasio y calcio, así como del principal metabolito producido durante el metabolismo de dicho edulcorante, la ciclohexilamina (CHA). En dichos estudios se analizaron múltiples dosis así como diferentes vías de administración evaluando las distintas vías de excreción y el porcentaje del edulcorante en cada una de ellas. También se evaluó el tiempo en

el cual el organismo expulsaba en su totalidad al ciclamato del cuerpo. La distribución y concentración del xenobiótico en el cuerpo fue otra variante a valorar. Actividad muscular, actividad cardíaca y actividad metabólica fueron estudiadas. Efecto laxante, posibles riesgos de formación de carcinomas en distintos órganos del cuerpo, probabilidad de que se desarrolle atrofia testicular por la ingesta del edulcorante fueron focos de estudio. Todos estos estudios se encuentran plasmados en la tabla 1 del anexo II.

### **3.2.2.- ASPARTAME**

El aspartame es metabolizado en fenilalanina, ácido aspártico y metanol en el tracto gastrointestinal. Los individuos con el desorden genético llamado fenilcetonuria deben tener precaución de no ingerir este edulcorante ya que no son capaces de metabolizar a la fenilalanina (Shankar *et. al.*, 2013).

Durante la década de los 70's se evaluó por primera vez los posibles riesgos a la salud que podía presentar el aspartame. JECFA encontró que un producto de conversión del aspartame era el 5-benzil-3,6-dioxo-2-piperazina (mejor conocida como dicetopiperazina, DCP) lo que tuvo como consecuencia no asignar una IDA para este edulcorante. Siguiendo con los estudios, en 1978 se demostró que la dicetopiperazina no presentaba mayor riesgo para la salud humana por lo que se asignó un valor de IDA de 40 mg aspartame/kg p.c.-día.

En dichos estudios (short-term studies of toxicity, long-term studies of toxicity and carcinogenicity) se evaluaron parámetros como metabolismo, tiempo y vías de excreción, sub-productos resultantes del metabolismo de este edulcorante, niveles de aspartame en sangre a determinado tiempo, estudios de teratogenicidad, estudios de mutagenicidad, estudios teratológicos, estudios de carcinogenicidad, absorción y distribución, estudios de degradación bacteriana, estudios enzimáticos, etc. En la tabla 2 del Anexo II se muestran algunos de los estudios llevados a cabo por JECFA respecto a la toxicidad del aspartame.

### **3.2.3.- ACESULFAME DE POTASIO**

El acesulfame de potasio es excretado gracias a la acción del riñón, esto después de que dicho edulcorante pasa a través del cuerpo humano sin alteración. Uno de los productos de biotransformación del acesulfame-K es la acetoacetamida, el cual es tóxico a dosis muy altas, sin embargo las cantidades a las cuales es empleada en alimentos esta sal de potasio no presenta riesgo alguno (Shankar *et. al.*, 2013).

El primer borrador acerca de los estudios toxicológicos llevados a cabo por la JECFA fue elaborado por el Dr. R. Walker, profesor de Ciencia de los Alimentos y encargado del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Surrey, Inglaterra. En la década de los 80's y principios de los 90's, el Comité de Expertos de la FAO/OMS realizaron estudios toxicológicos sobre este edulcorante y los metabolitos generados durante el metabolismo del acesulfame de potasio: acetoacetamida y ácido N-sulfónico acetoacetamida, concluyendo que éstos son poco tóxicos y no son mutagénicos (JECFA, 1981).

### **3.2.4.- ESTEVIA**

Después de la administración oral de *Stevia* a ratas se observó que el esteviósido no es fácilmente absorbido en el intestino delgado, sin embargo antes de la absorción en el intestino se metaboliza en dos compuestos: aglicona y esteviol. El esteviol es completamente absorbido en el intestino delgado y se excreta en la bilis como conjugados; sólo una fracción muy pequeña es detectable en la orina. Después de la excreción biliar, los conjugados se hidrolizan; su vida media de eliminación es de 24 h. El esteviol es el único metabolito fecal de esteviósido que ha sido identificado, y su excreción en las heces es la ruta principal (JECFA, 1999).

A través del Programa Internacional de la Seguridad Química (IPCS, por sus siglas en inglés), la JECFA publica una serie de evaluaciones de seguridad de

determinados aditivos alimentarios, incluidos los edulcorantes. Durante la quincuagésima primera reunión del Comité de Expertos de la FAO/OMS, realizado en la ciudad de Ginebra, se dieron a conocer los resultados recabados a través de una serie de experimentos y análisis del tipo toxicológico referente a la estevia rebaudiana y sus componentes, los esteviósidos. El encargado de llevar a cabo la estructuración del primer borrador fue el Dr. Josef Schlatter, miembro de la Oficina Federal de la Salud Pública del Gobierno de Suiza.

En dicho borrador se plasmó una explicación acerca de la importancia de llevar a cabo diversos estudios del ya mencionado edulcorante. Además, se abordaron datos biológicos, aspectos bioquímicos como absorción, distribución y excreción, también se tocó el tema de biotransformación y efectos sobre las enzimas y otros parámetros bioquímicos. Los estudios toxicológicos referentes a toxicidad aguda, estudios a corto plazo, estudios a largo plazo, estudios de carcinogenicidad, estudios de genotoxicidad, toxicidad de reproducción, toxicidad para el desarrollo. Se evaluaron estudios sobre los metabolitos involucrados como el esteviol. De este, se analizaron estudios de absorción, distribución y excreción, efectos que tiene el esteviol sobre las enzimas y otros parámetros bioquímicos. Se discutieron los resultados obtenidos de toxicidad aguda, genotoxicidad, toxicidad en el desarrollo, además de otra serie de estudios especiales como cariogenicidad y cambios en la función renal. En la tabla 4 del Anexo II se muestran los resultados obtenidos de algunos de los estudios llevados a cabo por la JECFA para evaluar la posible toxicidad de la estevia.

### ***3.2.5.- SUCRALOSA***

A pesar de que la sucralosa es un derivado de la sacarosa, este edulcorante no es reconocido por el organismo humano como carbohidrato por lo que es pobremente absorbido durante el proceso de digestión. Pasa a través del cuerpo sin

significativos cambios aparentes y sólo una pequeña porción de la dosis ingerida es absorbida en el tracto gastrointestinal (Shankar *et. al.*, 2013).

El primer borrador acerca de la toxicidad de la sucralosa fue elaborado por el Dr. Grant, Jefe de la División de Evaluación Toxicológica de Salud y Bienestar de Canadá. Este borrador se mostró en 1989 durante la trigésima tercera evaluación de aditivos alimentarios del Comité de Expertos de la FAO/OMS. Durante esta reunión se acordó asignar una ingesta diaria admisible provisional de 0-3.5mg sucralosa/kg pc-día. Por otra parte, en 1999, después de que la FDA evaluó 110 estudios relacionados con la toxicidad de este edulcorante tanto en animales como en humanos, aprobó este aditivo alimentario para 15 clases diferentes de bebidas y alimentos (Whitmore, 1998).

Un año después, en 1999, esta aprobación se extendió al uso en cualquier tipo de alimentos y bebidas; desde bebidas convencionales, suplementos alimenticios, salsas, aderezos, productos de panadería, etc. (Department of Health and Human Services, 1999; McNeil Nutritionals, 2006).

Los parámetros que se evaluaron en dichos estudios abarcaron desde el metabolismo de la sucralosa (tiempo de excreción, vías de excreción, absorción, distribución, metabolitos) hasta estudios de mutagenicidad, estudios de teratogenicidad, estudios sanguíneos, estudios de neurotoxicidad, estudios sobre enzimas, etc. En la tabla 5 del Anexo II se muestran algunos estudios llevados a cabo tanto por la FDA como por la JECFA para evaluar la posible toxicidad de la sucralosa.

### **3.2.6.- NEOTAME**

Después de una administración por vía oral de este edulcorante, se ha observado que aproximadamente del 20-30% de la dosis administrada se absorbe rápidamente y convertida en el principal metabolito, N- [N- (3,3-dimetilbutil)-L- alfa-

aspartil]-L-fenilalanina (mejor conocido como neotame desesterificado), y varios metabolitos menores. El neotame y dichos metabolitos se eliminan rápidamente a través de la orina y heces (WHO, 2004).

JECFA evaluó diversos estudios toxicológicos referentes al neotame a través de un borrador elaborado por el Dr. P. J. Abbott. Dicho borrador se recabó gracias a información proporcionada por el Departamento de Normas Alimentarias de Australia y Nueva Zelanda. La reunión del Comité de Expertos FAO/OMS se llevó a cabo en Canberra, Australia. Los parámetros que se evaluaron en dichos estudios abarcaron desde el metabolismo del neotame (tiempo de excreción, vías de excreción, absorción, distribución, metabolitos) hasta estudios de mutagenicidad, estudios de teratogenicidad, estudios sanguíneos, estudios de neurotoxicidad, estudios sobre enzimas, etc. En la tabla 6 del Anexo II se plasman algunos de los estudios toxicológicos del neotame llevados a cabo por la JECFA.

### **3.2.7.- SACARINA**

La sacarina no es metabolizada por el organismo humano además de no elevar los niveles de insulina en la sangre (Shankar *et. al.*, 2013). La sacarina fue evaluada por el Comité Mixto de Expertos en Alimentos de la FAO/OMS en 1967, 1974, 1978 y en 1980. En la penúltima evaluación (1978), la JECFA cambió la IDA de este edulcorante de 5mg/kg pc-día a 2.5mg/kg pc-día. La decisión de reducir la IDA y de restringir el uso de sacarina, se basó principalmente en algunos resultados obtenidos por algunos autores que afirmaban que la ingestión de sacarina a largo plazo tenía un riesgo cancerígeno potencial para los seres humanos. Sin embargo, estudios realizados con posterioridad, arrojaron distintos resultados los cuales están resumidos en la tabla 7 del anexo II.

## DISCUSIÓN

El Comité de Expertos de la FAO/OMS evaluó diversos estudios relacionados con la toxicidad inherente a la ingesta de las sales de calcio y sodio del ciclamato. Dichos análisis se llevaron a cabo en numerosas especies animales como perros, ratas, ratones, monos, conejos, etc., así como en humanos. Las principales vías de administración estudiadas fueron la vía oral, vía intravenosa y vía intraperitoneal. En la mayoría de los análisis se demostró que el edulcorante ingerido era eliminado principalmente por orina y heces, aunque se observó que una pequeña concentración no era excretada. Las concentraciones de ciclamato eliminadas por orina y heces variaban en función de la especie en estudio, sin embargo se observó que en humanos era aproximadamente del 25-35% y del 60-65%, respectivamente (JECFA, 1967).

En 1986, Leahy observó que el metabolismo en el organismo humano del ácido ciclámico y sus sales de calcio y sodio traía como consecuencia la formación de un metabolito, la ciclohexilamina (CHA). Un año después, Huntingdon Laboratories observó que sólo el 0.8% de la dosis del edulcorante suministrado a humanos es metabolizado a ciclohexilamina. Los estudios los llevaron a cabo a través del análisis de orina y heces eliminadas por humanos que habían ingerido 3 gramos de ciclamato de sodio durante 5 días por vía de administración oral. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia así como cromatografía de gases fueron las técnicas de análisis implementadas para estos estudios. Al observar que la ciclohexilamina era metabolizada a partir de la ingesta del ciclamato, diversos autores comenzaron a centrar su atención en la formación de dicho metabolito (JECFA, 1982).

Así, en 1987, Renwick publicó un artículo en el que afirmaba que la conversión de ciclamato a ciclohexilamina era dependiente de diversas bacterias localizadas en el intestino delgado de las especies en estudio. Encontró que *Clostridium* era la especie de bacteria que se encargaba de dicha conversión en el organismo de las ratas, enterobacterias en el conejo y enterococos en el hombre.

Se ha observado que durante el metabolismo de este edulcorante, la conversión a ciclohexilamina es muy variable, es decir, no es dependiente de la especie, la edad o el sexo sino es inherente a la capacidad que tiene cada organismo de llevar a cabo esta conversión o no. Por esta razón se llegó al consenso de realizar una clasificación en cuanto a la transformación de ciclohexilamina, de este modo se conoce a los no convertidores como aquellos individuos capaces de sintetizar menos del 0.1% de ciclohexilamina a partir del ciclamato; los convertidores son aquellos que convierten del 0.1-0.7% de CHA a partir de la dosis ingerida del edulcorante en estudio, y los altos convertidores se caracterizan por metabolizar más del 1% de ciclohexilamina del total del ciclamato introducido al organismo (JECFA, 1982).

Según los estudios realizados por Collings en 1989 (Metabolism of cyclamate and its conversion to cyclohexylamine), sólo cerca del 1.5% de la población es capaz de sintetizar más del 20% de ciclohexilamina a partir de la dosis ingerida de ciclamato. La mayor parte de la población en estudio (82%) sólo es capaz de transformar del 0-0.15% del ciclamato a CHA, es decir, algunos son no convertidores y otros sí lo son. También se encontró que cerca del 0.6% de la población estudiada pudo convertir prácticamente todo el ciclamato absorbido (60%).

En cuanto a la atrofia testicular, un estudio realizado en España por Serra-Majem (Cyclamate intake and cyclohexylamine excretion are not related to male fertility in humans) en la década de los 80's, donde hombres de entre 30 y 50 años de edad definidos clínicamente como infértiles, y 379 individuos que se utilizaron como control consumieron 0.63 mg de ciclamato/kg de peso corporal-día; dosis que regularmente consume la población española durante el día. Se encontró en la orina una concentración de 0.19 mg de ciclamato/kg de peso corporal en los casos estudiados y 0.23 mg de ciclamato/kg de peso corporal en los casos control. Para la ciclohexilamina, se detectó una concentración de 0.035 mg/kg pc y 0.053 mg/kg pc en los casos y controles, respectivamente. Se hicieron conteos de espermatozoides así como la vitalidad de los mismos no encontrando diferencias

significativas entre los casos en estudio y los controles, por tal razón se considera que la atrofia testicular no es inherente al consumo de ciclamato.

El Comité Europeo llevó a cabo estudios de exposición de ciclohexilamina en trabajadores involucrados en la manufactura de la misma (Revised opinion on cyclamic acid and its sodium and calcium salts). No se encontraron efectos adversos. Sin embargo, debido a la poca información recabada y al número tan bajo de la población en estudio se concluyó que dichos estudios no pueden ser extrapolables a otro sector de la población (SCF, 2000).

El aspartame se ha utilizado como edulcorante en alimentos y como edulcorante de mesa por más de 20 años en muchos países de todo el mundo. En Europa, la primera autorización para el uso en varios Estados miembros sucedió durante la década de 1980 y fue aprobado para su uso en toda la Unión Europea en 1994, a raíz de las evaluaciones de seguridad a fondo por parte de la Comisión Europea (CE) y del Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF). El aspartame ha sido sometido a pruebas exhaustivas en animales y estudios en humanos, incluyendo cuatro estudios de carcinogenicidad en animales realizados en la década de 1970 y principios de 1980. Estos estudios, junto con los estudios de genotoxicidad, fueron evaluados por los organismos reguladores de todo el mundo y se llegó a la conclusión de que no mostraron evidencia de potencial genotóxico o carcinogénico.

Desde su aprobación, la seguridad del aspartame ha sido repetidamente cuestionada, con discusiones que no se centran únicamente en la seguridad del aspartame en sí, sino también en la seguridad de sus productos de degradación como lo son el ácido aspártico, la fenilalanina y el metanol. Todas estas sustancias se producen naturalmente en el cuerpo. En respuesta a tales preguntas, el SCF llevó a cabo una nueva revisión de todos los datos sobre el aspartame en 2002 y llegó a la conclusión de que no había necesidad de revisar el resultado de su evaluación de riesgos anterior o la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) de aspartame, de 40 mg/kg de peso corporal (pc), establecida con anterioridad (EFSA, 2006).

Durante los diversos estudios para examinar la posible toxicidad del aspartame, se encontró que durante las primeras 24 horas la tasa de eliminación de este edulcorante es máxima, además se observó que las principales vías de eliminación son el CO<sub>2</sub>, la orina y las heces. Al analizar la actividad de la molécula de aspartame en sangre, se demostró que durante las primeras 3 horas posteriores a la dosificación se encuentra la actividad máxima. Algunos estudios arrojaron que diversas dosificaciones de aspartame pueden generar astrocitomas en el cerebro así como polípos uterinos, esto en ratas. Sin embargo, estos acontecimientos fueron atribuidos al hecho de que el aspartame suele contener el 1% de dicetopiperazina como impureza. Por tal motivo es muy difícil mostrar efectos adversos en cuanto a la ingesta de este edulcorante ya que se necesitaría ingerir cantidades elevadas de aspartame (100 g de aspartame al día) y considerando las dosis a las cuales es empleado (300-10000 ppm) se requeriría consumir cerca de 600 latas de refresco para ingerir dicha cantidad de edulcorante.

La fenilalanina es una molécula generada durante el metabolismo del aspartame. Cuando los niveles de este aminoácido en el organismo son altos pueden suscitarse cambios en el comportamiento del individuo, tales cambios pueden mostrar depresión, insomnio, cefaleas, alteración de la visión e incluso cuadros de hiperquinexia (Kretchmer, 2002). Por lo anterior, el foco de atención que tiene dicho problema es alto. En Estados Unidos el tema del aspartame y su relación con la transformación a fenilalanina era muy debatido debido a que este país tiene un alto índice de personas con fenilcetonuria. Sin embargo, se observó que una dosis de aproximadamente 30 mg de aspartame/kg pc-día no incrementan las concentraciones de fenilalanina en el plasma por encima de aquellos valores observados en adultos normales. Los únicos individuos que deben estar prevenidos por el contenido de la fenilalanina durante el metabolismo de aspartame son los fenilcetonúricos homocigotos o mujeres embarazadas que padezcan de fenilcetonuria.

Aunado a lo anterior, Bergstrom *et. al.*, (2008) describieron que los niveles de fenilalanina en sangre se elevan significativamente cuando se administraba una sola dosis de 500 mg aspartame/kg-p.c. Generalmente este edulcorante es ingerido a través de refrescos de dieta en los cuales las dosis empleadas son de 400 mg de una mezcla de aspartame/acesulfame (70:30) por litro de refresco. Por lo tanto en un litro de bebida habría 280 mg de aspartame, y de esta manera un hombre de 70 Kg de peso corporal debería ingerir cerca de 125 litros de refresco de dieta para presentar niveles elevados de fenilalanina en el plasma. Algo que es prácticamente imposible.

El aspartato, producto generado durante el metabolismo del aspartame, es un aminoácido que tiene una estructura muy similar al glutamato. Ambas moléculas son neurotransmisores estimuladores en el sistema nervioso central. Estudios demostraron que el aspartato y el glutamato producen efectos excitatorios a las neuronas, causándoles sobre estimulación letal a sus receptores de estímulos (Bell, 1993). Aunque normalmente la circulación del aspartato y del glutamato parecen estar excluidos del cerebro, el mecanismo depende de un transportador para llevar estos aminoácidos, localizados en la barrera sangre-cerebro (OMS, 2005). Este transportador bidireccional opera más fuertemente para transportar el aspartato que el glutamato fuera del cerebro. De esta manera, aunque estos sean administrados vía la dieta o por alguna otra vía de administración son expulsados del cerebro. Sin embargo, si las dosis son muy altas, el transportador puede ser dominado. Este problema puede ser solucionado si no se rebasan las dosis a las que el transportador es dominado. Cuando la ingesta de aspartame es alrededor de 200 mg/kg pc, los niveles de aspartato y glutamato combinados alcanzaron picos de alrededor 7 $\mu$ m/100mL, un nivel muy por debajo del umbral tóxico en un ratón infante (Bell, 1993) por lo tanto no se corre riesgo alguno al consumir este edulcorante.

El alcohol metílico o metanol es otro producto generado durante el metabolismo del aspartame, esto ocurre por hidrólisis. El organismo humano es capaz de metabolizar al metanol a través del hígado, oxidándolo debido a la acción de la

enzima alcohol-deshidrogenasa. El producto de oxidación es el formaldehído y en pasos oxidativos subsecuentes es convertido, por acción de la enzima aldehído-deshidrogenasa, en ácido fórmico, dióxido de carbono y agua. Esto ocurre a través de una vía dependiente de tetrahidrofolato (Eells et. al., 1992).

Un estudio llevado a cabo con hombres adultos (Biochemical Studies: Observations in Man) en donde las dosis de aspartame fueron de 100 y 200 mg/kg pc por vía de administración oral se obtuvieron incrementos de metanol en sangre de 1.27 y 2.58 mg/dL, esto ocurrió durante las dos primeras horas posteriores a la administración de dicho edulcorante. Estos niveles de metanol en sangre disminuyeron drásticamente después de 4 horas y se hicieron indetectables a las 24 horas. No se observó ningún efecto tóxico producido por el aumento en la concentración de metanol en la sangre (JECFA, 1975). Las dosis de metanol en bebidas *light* es de aproximadamente 50 mg/L, siendo que en jugos naturales como el de uva, jitomate o vinos rojos es de 12-680, 180-218 y 99-271 mg de metanol/L de bebida, respectivamente. Dicho lo anterior, se correría más riesgo al consumir jugos naturales de dichos frutos que ingerir bebidas *light*.

La FDA estableció niveles aceptables de exposición al metanol de 7.1-8.4 mg/kg pc-día. Por lo tanto no existen riesgos a la salud debido a exposiciones al metanol por consumo de aspartame.

La JECFA examinó los datos recabados de diversos estudios de toxicología llevados a cabo para el acesulfame de potasio, que confirman la validez del estudio a largo plazo (presentado en el anexo II) en ratas en cuanto a los niveles de acesulfame a los cuales no se observan efectos adversos. Una revisión de los datos fármaco-cinéticos comparativos en ratas y perros mostraron que los niveles sanguíneos de acesulfame potásico alcanzados después de dosis similares fueron mayores en los perros; no había evidencia para sugerir que, en relación con los niveles de este edulcorante en sangre, el perro fuera más sensible que la rata a la ingestión de dicho sustituto de azúcar.

Los estudios fármaco-cinéticos en seres humanos mostraron que las dosis orales de acesulfame de potasio se absorben completamente y se excretan rápidamente, sin cambios en la orina. La vida media en el plasma fue de 1.5 horas, lo que indica que el período de exposición a la sustancia es breve además no existen evidencias de acumulación de acesulfame en el organismo.

Varios estudios llevados a cabo con el hombre y con diversas especies de animales, demostraron que el acesulfame de potasio no se metaboliza (Absorption, distribution and excretion: Acesulfame) Además, también se reveló que las dosis repetidas en ratas no inducen ningún tipo de cambio en el metabolismo de esta especie, por este motivo la JECFA decidió que los estudios en rata podían ser extrapolables a los humanos. Así, se llevó a cabo un estudio en ratas durante dos años en donde se expusieron a una dosis determinada del edulcorante; al término del análisis se llegó a la conclusión que la ingesta diaria admisible para ratas era de 1500 mg de acesulfame/kg pc-día. Extrapolando estos resultados a los humanos y tomando en cuenta un factor de seguridad de 100 (inter- e intra-especie) se determinó una ADI de 15 mg de acesulfame/kg pc-día para los humanos (JECFA, 1981).

El Comité también tomó nota de los nuevos datos que indicaban que el acesulfame de potasio no mostraba efectos adversos en ratas diabéticas (Biochemical Aspects: Absorption, distribution and excretion in rats) y no era alergénica en una prueba de anafilaxia sistémica activa en los conejillos de indias. Aunado a lo anterior, la JECFA examinó extensos estudios toxicológicos en los productos de degradación del acesulfame (N-sulfonato de acetoacetamida y  $\beta$ -hidroxibutiramida) demostrando que ninguna de estas moléculas tienen efectos mutagénicos además de mostrar una toxicidad nula o baja (JECFA, 1981).

Después de la administración intravenosa de estevia, el esteviósido se distribuye rápidamente por todo el cuerpo, parcialmente secretado por el epitelio tubular renal, y se excreta en orina.

Se observó que a altas concentraciones, el esteviósido afectó una variedad de parámetros bioquímicos en tejidos de rata cuando se realizaron estudios *in vitro*. Se inhibieron de manera débil la fosforilación oxidativa, siendo que el esteviol tuvo un impacto aproximadamente 30 veces mayor que los glicósidos de esteviol. El mecanismo más probable es la inhibición de la traslocación mitocondrial de los nucleótidos de adenina. También se encontró que el esteviol inhibe la absorción de la glucosa en el intestino delgado de la rata mediante la reducción de ATP de la mucosa. El esteviósido también puede actuar como un antagonista del calcio, lo que desemboca en un efecto hipotensor y en la inducción de la diuresis y una caída de la reabsorción tubular renal de la glucosa. Sin embargo, esta molécula no es capaz de penetrar las membranas celulares. Aunque la mayoría de los estudios realizados fueron llevados a cabo después de una administración intravenosa de esteviósidos, se observó que los efectos causados por una administración oral de extractos de *Stevia rebaudiana* fueron similar (hipotensión y diuresis).

En algunos estudios subcrónicos y de carcinogenicidad, así como también en estudios de toxicidad inherentes a la ganancia de peso corporal y efectos reproductivos llevados a cabo en dos generaciones no se detectaron efectos adversos por el consumo de glicósidos de estevia (JECFA, 1999). En estos estudios (Toxicological studies: Genotoxicity, Developmental toxicity) la disminución en el consumo de alimento y en la eficiencia de conversión del mismo se evaluaron. El Comité considera los efectos sobre el peso corporal como no adversos o no indicativos de toxicidad, pues la dieta con estevia mostró una menor palatabilidad y un valor nutritivo inferior de alimentación que contiene los glicósidos de esteviol. Por lo tanto, los parámetros de peso corporal no son considerados como criterios de valoración adecuados para el establecimiento del NOAEL para estos estudios.

En general, el esteviósido y el rebaudiósido A no muestran evidencia de genotoxicidad *in vitro* o *in vivo*. Aunque se informó de un único ensayo que mostró efectos indicativos de daño en el ADN, el Comité consideró que este estudio no proporciona evidencia sustancial de un potencial efecto genotóxico de esteviósido,

ya que hallazgos similares no fueron vistos en estudios anteriores en ratones utilizando esteviósidos de purezas superiores o inferiores. El Comité también observó que el esteviol y algunos de sus derivados oxidativos muestran clara evidencia de genotoxicidad *in vitro*, particularmente en presencia de un sistema de activación metabólica. Sin embargo, los estudios de daño del ADN y la formación de micronúcleos en ratas, ratones y hámsteres han demostrado que la genotoxicidad de esteviol no se expresa *in vivo* a dosis de hasta 8000 mg / kg de peso corporal. Dado que los datos toxicocinéticos disponibles indican que el esteviol libre está ausente en la circulación sistémica en humanos o, en el peor de los casos, presente en niveles muy bajos (insignificantes), cualquier inquietud planteada por el perfil de genotoxicidad *in vitro* de esteviol se trata íntegramente por el hecho de que el potencial genotóxico de esteviol no se expresa *in vivo*, y por los resultados de genotoxicidad negativos para los glicósidos de esteviol *in vitro* e *in vivo*.

Se observó, también, que el esteviósido tiene muy baja toxicidad oral aguda. La administración oral de esteviósido en una concentración en la dieta de 2,5% en ratas en un estudio de dos años, lo que equivale a 970 y 1,100 mg/kg de peso corporal por día en hombres y mujeres, respectivamente, no tuvo ningún efecto significativo. Reducción del aumento de peso corporal se observó a una concentración en la dieta de un 5% de esteviósido. No hubo indicios de potencial carcinogénico en un estudio a largo plazo y no hay evidencia de generación de tumores en vejiga.

En los estudios de toxicidad para la reproducción, la administración de esteviósido en dosis de hasta 2,500 mg/kg de peso corporal por día para hámsteres y 3,000 mg/kg de peso corporal por día a ratas no tuvo ningún efecto. Aunque una infusión acuosa de *S. rebaudiana* administrada por vía oral a ratas hembra causó una reducción severa de la fecundidad, el efecto anticonceptivo no fue atribuible al edulcorante. Se demostró que los glicósidos de esteviol no muestran efectos teratogénicos ni embriotóxicos en ratas que recibieron hasta 1,000 mg/kg de peso

corporal por día por sonda. Los resultados de las pruebas de genotoxicidad con esteviósido en varios sistemas fueron uniformemente negativos.

Los resultados de las pruebas toxicológicas indicaron que los glicósidos de esteviol no son genotóxicos, cancerígenos, ni están asociados a ninguna toxicidad reproductiva o de desarrollo. El NOAEL en el estudio de carcinogenicidad de 2 años en la rata fue de 2,5% esteviósido (95,6% de pureza) igual a 967 mg de esteviósido/kg de peso corporal/día (correspondiente a aproximadamente 388 mg de equivalentes de esteviol/kg de peso corporal/día).

Las dosis únicas de 1,000 mg de glicósidos de esteviol/ día (97% rebaudiósido A) (correspondiente a aproximadamente 330 mg de equivalentes de esteviol / día) no afectó a la homeostasis de la glucosa y no afecta la presión arterial en personas con intolerancia a la glucosa normal o diabetes mellitus tipo 2. También las dosis repetidas durante 16 semanas de 1,000 mg rebaudiósido A/día no alteraron la homeostasis de la glucosa en personas con diabetes tipo 2 mellitus. Parámetros de la presión arterial no se vieron afectados por la ingesta oral de 1000 mg rebaudiósido A/día durante 4 semanas en las personas con presión arterial sistólica normal y baja. Esta dosis diaria corresponde a 16,6 mg rebaudiósido A/kg de peso corporal para una persona que pesa 60 kg y hasta aproximadamente 5,5 mg de equivalentes de esteviol/kg de peso corporal/día.

Los datos disponibles relativos a reacciones de anafilaxia debido al consumo de esteviósidos en niños con eczema atópico revelan que este edulcorante no lo acentúa. Sin embargo, según el Comité, suscitan preocupación en cuanto a la posibilidad de una exposición oral a glicósidos de esteviol de desencadenar reacciones anafilácticas ya que algunos estudios *in vitro* e *in vivo* indican que el esteviósido puede tener efectos inmunoestimulantes y actividades moduladoras sobre la inflamación. Sin embargo, se considera que los efectos inmunoestimulantes que pueden llegar a desarrollar los glicósidos de esteviol en líneas celulares y modelos de roedores inmunomoduladores no se han demostrado de manera robusta y reproducible, lo que podría permitir que no sean utilizados como estudios fundamentales para la evaluación del riesgo. Estas

observaciones merecen un examen más a fondo ya que, si se confirman, podrían plantear su preocupación por el uso de esteviósidos en algunos subgrupos de la población, sobre todo para las personas que sufren de enfermedades autoinmunes o la inflamación del tracto gastrointestinal.

Al considerar las dosis máximas de uso propuestas para la exposición media en la dieta de glicósidos de esteviol expresados como equivalentes de esteviol (en niños de entre 1-14 años) varió 0,7 a 7,2 mg/kg de peso corporal/día, y 3,3 a 17,2 mg/kg de peso corporal/día. Los principales contribuyentes para el total de exposición anticipada a los glucósidos de esteviol, expresados como equivalentes de esteviol, son las bebidas carbonatadas (11 a 58%) y postres, incluyendo productos lácteos aromatizados (14 a 71%). Confitería representó el 11% de la exposición (EFSA, 2008).

Después de considerar todos los datos sobre la estabilidad, los productos de degradación, el metabolismo y toxicología, el Comité establece una ingesta diaria admisible (IDA) para los glicósidos de esteviol, expresado como equivalentes de esteviol, de 4 mg/kg de peso corporal/día con base en la aplicación de un factor de seguridad de 100 para el NOAEL de esteviósido de 967 mg de esteviósido/kg de peso corporal/día (correspondiente a aproximadamente 388 mg de equivalentes de esteviol/kg de peso corporal/día) a partir de un estudio de carcinogenicidad de 2 años en ratas (Kobylewski & Eckhert, 2008).

Se llevaron a cabo extensos estudios en animales y humanos con sucralosa (TGS) y con una mezcla equimolar de 4-CG y 1,6-DCF (JECFA, 1988, JECFA 1989). Con respecto a los estudios en animales, el Comité evaluó farmacocinética, estudios metabólicos, mutagénesis, teratogénesis, reproducción, estudios de neurotoxicidad, a corto plazo, a largo plazo, y de carcinogenicidad. Se demostró que la TGS se absorbe muy poco después de la administración oral en ratón, rata, perro y en el hombre, y se elimina esencialmente sin cambios en la orina humana. La vida media de la sucralosa en el hombre es de aproximadamente 13 horas, por lo que no se acumula en el organismo. Se vio que la TGS se absorbe muy poco después de la administración oral en la rata (23.3%), en el ratón (13-26%), en el

perro (7-36%) y en los hombres (8.22%). También se observó que este edulcorante se excreta esencialmente sin cambios en la orina y las heces, no se hidroliza. Una pequeña proporción (2%) se excreta en la orina como conjugado con ácido glucorónico

La TGS es considerada como no embriotóxica o teratogénica en los estudios llevados a cabo en ratas y conejos. Sin embargo, los conejos mostraron una toxicidad marcada para la madre, con un pequeño incremento de muertes asociadas con alteraciones severas en la función gastrointestinal, aunque sólo a la dosis más alta probada (700 mg/kg). Este parece ser un efecto no específico causado por la sensibilidad del conejo a altas dosis de compuestos que producen efectos osmóticos en el intestino grueso.

De acuerdo con algunos estudios realizados por la JECFA (Biochemical Aspects: Absorption, distribution, and excretion), el perfil de eliminación de los humanos en cuanto a sucralosa es similar al perfil de excreción que siguen los ratones, perros y ratas, ya que por vía de administración oral todas estas especies eliminan cerca del 60-80% de la dosis total administrada por heces y del 10-20% por la orina. Sin embargo, cuando la sucralosa es administrada por vía intravenosa los niveles de excreción se invierten, eliminándose la mayor cantidad de sucralosa por vía urinaria. Algunos estudios de farmacocinética concluyen que cerca del 85% de la sucralosa ingerida no es absorbida por el cuerpo humano y es excretado intacto por heces fecales. El límite de absorción de este edulcorante es de aproximadamente el 15% el cual es absorbido por medio de una difusión pasiva.

En relación a la reproducción, estudios llevados a cabo en conejos hembras y ratas hembras tratadas con sucralosa, así como en ratas hembras tratadas con productos de hidrólisis de dicho edulcorante demuestran que no hay evidencias para establecer una relación entre la sucralosa y posibles efectos teratogénicos, además se demostró que ninguna especie tratada manifestó alguna alteración en la capacidad de reproducción. Sin embargo, algunos otros investigadores afirman que cuando algunas especies son tratadas con dosis elevadas de productos de hidrólisis de sucralosa (250 mg/kg pc) por un período prolongado (dos años) se

pueden presentar problemas de toxicidad en la reproducción, por ejemplo una disminución de los niveles de espermatozoides (JECFA, 1989).

Extrapolando éstas dosis a las concentraciones a las cuales se encuentra la sucralosa en refrescos bajos en calorías se tiene que generalmente la sucralosa se usa con el acesulfame de potasio, debido a que se presenta una especie de sinergia entre estos dos edulcorantes, en una proporción 70:30 sucralosa/acesulfame de potasio en concentraciones de 8mg se dicha mezcla/100 mL de bebida, por lo tanto hay 5.6 mg de sucralosa en 100 mL de refresco y por consiguiente 56mg de sacarosa clorada en un litro de bebida carbonatada. De esta manera se necesitarían consumir aproximadamente 446.43 litros de refresco con sucralosa durante dos años para presentar problemas de reproducción.

Tomando en cuenta que menos del 2% de la sucralosa es convertida a productos de hidrólisis, sería necesario consumir cerca de 25 gramos de sacarosa clorada al día durante dos años para presentar este tipo de problemas, y dadas las dosis a las cuales es empleado este edulcorante (70-80 mg/L refresco, 500 mg/100 g de bebidas en polvo, 100 mg/kg de productos lácteos y productos de panadería) un adulto de 70 kg de peso corporal necesitaría consumir cerca 26.6 litros de bebida en polvo hidratada, 11 kg de algún producto lácteo o de un producto de panadería (con este edulcorante) de manera diaria durante un período de dos años para presentar efectos adversos.

Dicho lo anterior, los estudios generales de toxicidad demuestran que la sucralosa y sus productos de hidrólisis no representan un riesgo para la salud humana, dadas las concentraciones en las cuales son utilizadas en los alimentos y bebidas. Además, un estudio llevado a cabo en dos generaciones en ratas, cada uno de dos camadas, tratadas con concentraciones alimentarias de 0, 3,000, 10,000 y 30,000 ppm de sucralosa no mostraron ningún efecto adverso en el rendimiento del apareamiento, la fertilidad, gestación, longitud, tamaño de la camada, la proporción de sexos o la viabilidad de la progenie.

La sucralosa no es metabolizada por el organismo, que tampoco la utiliza para producir energía, por lo tanto, no aporta calorías. A diferencia de otros edulcorantes bajos en calorías, su gran estabilidad la hace apta para ser utilizado en procesos de cocción y horneado, sin sufrir descomposición. Puede ser conservado durante largos períodos de tiempo, es estable en soluciones con diferentes pH, y a temperaturas elevadas (180°C - 230°C), todo esto debido a la gran estabilidad de su estructura molecular; sin embargo bajo determinadas condiciones de almacenamiento, extrema acidez y altas temperaturas, puede producirse hidrólisis parcial. Al hidrolizarse, se obtienen los monosacáridos, 4-cloro-4-deoxi-galactosa (4-CG) y 1,6-dicloro-1,6-dideoxifruktosa (1,6-DCF).

En el año 2000, Grice & Goldsmith estudiaron la existencia de dos productos de hidrólisis de la sucralosa: 4-CG y el 1,6-DCF, éstos productos son absorbidos con mayor rapidez en comparación con la sucralosa después de ser ingeridos por vía oral. El compuesto 4-CG es excretado, prácticamente, intacto por vía urinaria. En cambio, el 1,6-DCF puede seguir alguna de las siguientes rutas metabólicas: 1) Sufrir una reducción a 1,6-dicloroaminitol excretado de manera rápida por medio de la orina ó 2) Conjugarse con el glutatión.

Finn & Lord (2000) estudiaron la posible neurotoxicidad inducida por la utilización de los productos de hidrólisis de la sucralosa, éstos metabolitos son el 6-cloro-6-deoxiglucosa (6-CG). Existen tres productos que poseen estructuras similares, es por ello que se verificó la neurotoxicidad derivada de la ingestión del 6-CG. Sucralosa y los productos de hidrólisis fueron administrados en ratas y monos a dosis de 1000mg/kg pc-día durante 28 días, con el subsecuente análisis de microscopia electrónica y estudios en la estructura histopatológica así como estudios de los posibles efectos adversos en el Sistema Nervioso Central. Este estudio arrojó evidencias de que no existe correlación alguna entre daños en el SNC y la ingestión de sucralosa o del metabolito 4-CG.

El uso del neotame está permitido en los Estados Unidos, Australia, China, Costa Rica, República Checa, Ecuador, México, Nueva Zelanda, Perú, Polonia, Rumania, y Trinidad y Tobago. En la República Checa, Polonia y Eslovaquia, los

niveles máximos permitidos se han establecido para las diferentes categorías de alimentos y bebidas. En otros países, se permite el neotame a niveles necesarios para lograr efectos técnicos deseados, de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación (GMP). En Australia y Nueva Zelanda, la ingesta diaria admisible (IDA) para neotame de 0-2 mg / kg de peso corporal, la cual se estableció en 2001; este dipéptido puede ser aprovechado para su uso, en niveles compatibles con BPM en un gran número de categorías de alimentos sólidos y líquidos (Australia Nueva Zelanda Código de Normas Alimentarias, 2003).

En Estados Unidos, se estableció una IDA de 0-0,3 mg/kg de peso corporal, esto fue en el año 2002; este edulcorante está aprobado para su utilización en alimentos y bebidas, además está autorizado para dicho fin según las BPM para su uso como edulcorante no nutritivo en todos los alimentos, excepto la carne y aves de corral (Food and Drug Administration, 2014). Los niveles típicos de uso es de 15-17 mg/kg en bebidas y de 15-70 mg/kg en alimentos sólidos, con la excepción de la goma de mascar, 250 mg/kg.

El metabolismo y los estudios relacionados con la farmacocinética del neotame han sido evaluados en ratones, ratas, perros, conejos y seres humanos. Aproximadamente del 20-30% de la dosis de neotame administrado por vía oral se absorbe en todas las especies estudiadas. Aunado a lo anterior, más de 95% de neotame administrado por vía oral se metaboliza. El neotame desesterificado representó aproximadamente el 80% de la dosis total de neotame administrado, mientras que otros metabolitos representaron <5%. En la figura 18 se observa el metabolismo del neotame.

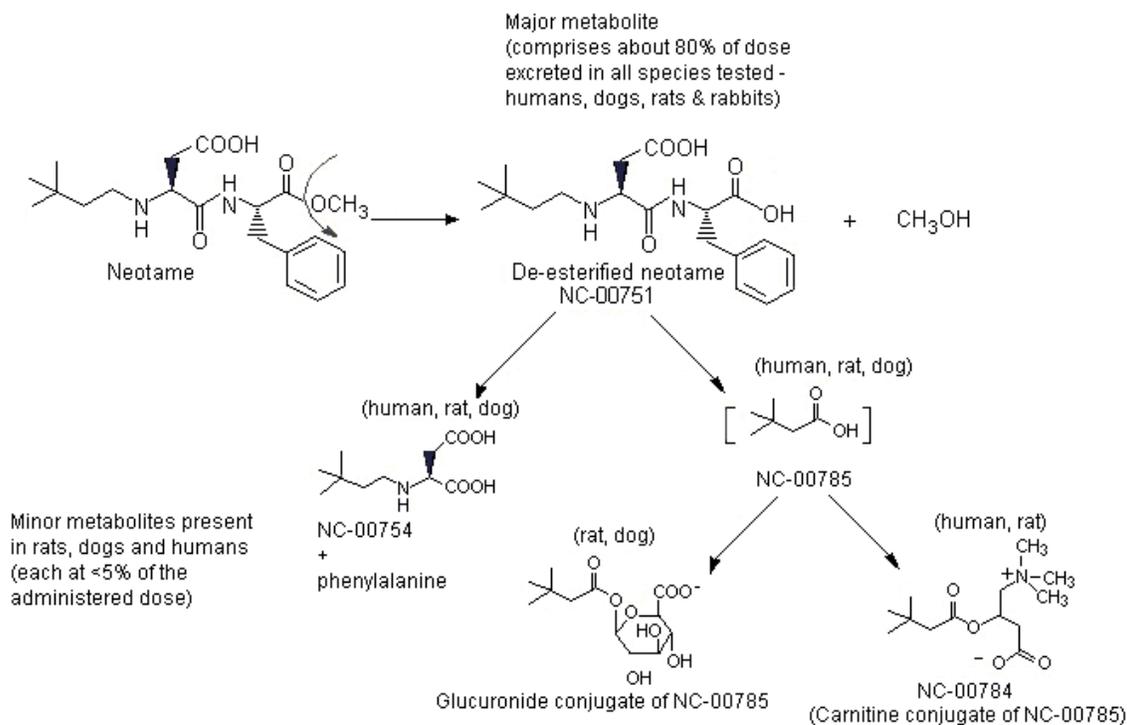


Figura 18.- Metabolismo del neotame. JECFA, 2004.

Estudios llevados a cabo en ratas que recibieron neotame radiomarcado por sonda (Biochemical Aspects: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion), se encontró que éste se encuentra principalmente en el estómago, tracto gastrointestinal, en el hígado, riñón y en la vejiga, con cantidades más pequeñas de neotame radiomarcado detectados en todo el resto del cuerpo. No hubo evidencia de acumulación de neotame radiomarcado en ningún tejido. Un estudio en ratas embarazadas mostró evidencias de que el neotame no se detectó en el feto. Después de la administración oral de neotame radiomarcado a ratas y perros, cerca del 90-95% del edulcorante se recuperó en la orina y las heces dentro de las primeras 48 h posteriores a la dosificación. (WHO, 2004).

El principal metabolito encontrado en la orina y las heces de ratas y perros es el neotame desesterificado. Además, el neotame sin modificación alguna no fue detectado en la orina de rata, pero estuvo presente del 1-6% de la dosis administrada en la orina de los perros, inherente a lo anterior, el neotame sin

cambios no se detectó en las heces de ratas o perros. Diversos análisis relacionados con la farmacocinética de los metabolitos del neotame en plasma, se encontró que posterior a la administración oral a ratas de este edulcorante las concentraciones plasmáticas máximas se produjeron después de 0,5 h, seguido de un rápido descenso en sangre.

Los estudios a corto plazo y a largo plazo con neotame (Short-term studies of toxicity; Long-term studies of toxicity and carcinogenicity) se han llevado a cabo en ratones, ratas y perros, usando un régimen de dosis constante del peso corporal ajustado. En todos estos estudios, el principal efecto observado fue una disminución relacionada con el tratamiento en la ganancia de peso corporal, que fue ligada en la mayoría de los casos a una disminución medible en el consumo de alimentos, especialmente a dosis altas. El Comité considera que este efecto se debió a la reducción de la palatabilidad de la dieta que contiene neotame, es decir, no encontraron evidencias de toxicidad de este edulcorante (WHO, 2004).

La conclusión anterior se apoya en varias observaciones; primeramente, en un estudio de 13 semanas llevado a cabo en ratones que recibieron neotame en la dieta, la alta incidencia de la dispersión de los alimentos es indicativo de la palatabilidad reducida de la dieta. En segundo lugar, los cambios de peso corporal observados en los estudios de 13 semanas en ratas y perros fueron parcialmente reversibles cuando los animales fueron tratados de nuevo con una dieta basal durante un período de 4 semanas al final del estudio. Un tercer punto importante a tratar es la reducción del consumo de alimentos que generalmente se produjo al inicio del tratamiento en todas las dosis estudiadas, seguido por un cierto grado de adaptación de los animales a la dieta.

Cabe resaltar que se realizaron estudios sobre un amplio intervalo de dosis (50-1000 mg/kg de peso corporal por día) y los cambios de peso corporal no estaban estrechamente relacionadas con la dosis, como se esperaría si los cambios observados fueran una manifestación de la toxicidad relacionada con el tratamiento. Además, en un estudio de un año con ratas, no hubo cambios en la ganancia de peso corporal o en la eficiencia de conversión de alimentos

relacionados con los animales que tenían neotame en su dieta. Por último, cuando el efecto del neotame en la palatabilidad de la dieta se examinó específicamente en un estudio de preferencia comparando dietas basales con y sin neotame a una concentración de 50-15,000 mg/kg de dieta, las ratas mostraron una clara preferencia por la dieta sin neotame cuando la concentración de neotame fue > 150 mg/kg de dieta. No hubo disminución significativa en el peso corporal observado en este estudio, pero la ganancia de peso corporal se redujo en los machos a >5000 mg/kg de dieta, cuando la palatabilidad reducida causó una disminución significativa en el consumo de alimentos. A la luz de la información anterior, el Comité acordó que los valores asignados para los efectos adversos no observados (NOAEL) para los diversos estudios a corto plazo y largo plazo de la toxicidad no deben ser asignados sobre la base de una disminución en el peso corporal o ganancia de peso corporal.

Además de las disminuciones relacionadas con la palatabilidad en la ganancia de peso corporal, el neotame fue tolerado en todas las especies cuando se administraron en altas dosis en la dieta, esto tanto en estudios a corto plazo como a largo plazo, sin signos clínicos de toxicidad. En un estudio de 13 semanas en ratones (Short-term studies of toxicity; Long-term studies of toxicity and carcinogenicity), el NOAEL fue 1,000 mg neotame/kg de peso corporal por día en la dieta, aunque hubo un incremento en el peso del hígado con respecto al peso corporal. En ese mismo estudio llevado a cabo en ratas, hubo un aumento pequeño pero significativo en la actividad de la fosfatasa alcalina en suero a dosis de 1,000 y 3,000 mg/kg de peso corporal por día en la semana 13. Sobre la base de estos cambios, el NOAEL para el neotame fue de 300 mg/kg de peso corporal por día. Sin embargo, en el estudio de 1 año en ratas expuestas a este edulcorante, no se observaron aumentos en la actividad de la fosfatasa alcalina y el NOAEL para neotame fue 1,000 mg/kg de peso corporal por día, la dosis más alta ensayada (WHO, 2004).

La degradación del neotame se evaluó de manera artificial a una alta concentración de 200 ppm en bebidas que contienen soluciones búfer de fosfatos y citratos, simulando formulaciones utilizadas en refrescos de cola comercial (pH 2.8 y 3.2), refresco de lima-limón (pH 3,8) y cervezas de raíz (pH 4,5), cubriendo un amplio rango de temperatura (5, 20, 30 y 35 ° C) y manteniéndolos en almacenamiento de hasta 8 semanas. Se simularon condiciones a las que típicamente se encuentran los refrescos, además de exponer a las bebidas a condiciones extremas de tiempo y temperatura. La dependencia de pH, tiempo y temperatura se evaluó para todos los productos de degradación de neotame. Mayores concentraciones de neotame se utilizaron para permitir la detección de bajas concentraciones de productos de degradación. El uso de concentraciones más altas de neotame se justifica sobre la base de perfiles cinéticos similares para concentraciones de este edulcorante a 200 ppm y 15 ppm, una concentración relevante para el uso previsto.

El producto de degradación principal de neotame en concentraciones de uso previsto o en las concentraciones mucho más altas utilizadas en formulaciones de bebidas simulacros es el neotame desesterificado. La hidrólisis de neotame a neotame desesterificado se produce lentamente y es dependiente de pH y temperatura (WHO, 2004).

Además de la desesterificación del neotame, se detectaron tres productos de degradación de menor importancia. En concreto: 1) N-[N-(3,3-dimetilbutil)-L-aspartamidil]-L-fenilalanina 1-metil éster formado por ciclación de neotame, 2) N-[N-(3,3-dimetilbutil)-L-beta-aspartil] -L-fenilalanina-1-metil éster formado por beta-reordenación de neotame, y 3) N-[N-(3,3-dimetilbutil)-L-aspartamidil]-L-fenilalanina formado por hidrólisis de éster metílico de N- [N-(3,3-dimetilbutil)-L-aspartamidil]-L-fenilalanina-1-metil éster. Estos productos de degradación menor son representados por <1% de la concentración inicial de neotame (200 ppm) después de 8 semanas de almacenamiento a 20 ° C. Cuando la concentración inicial de neotame fue de 15 ppm, estos productos no se detectaron.

Las vías de degradación para el neotame en bebidas a una concentración de 200 ppm se muestran en la Figura 19 (Lui y Cleary, 1998).

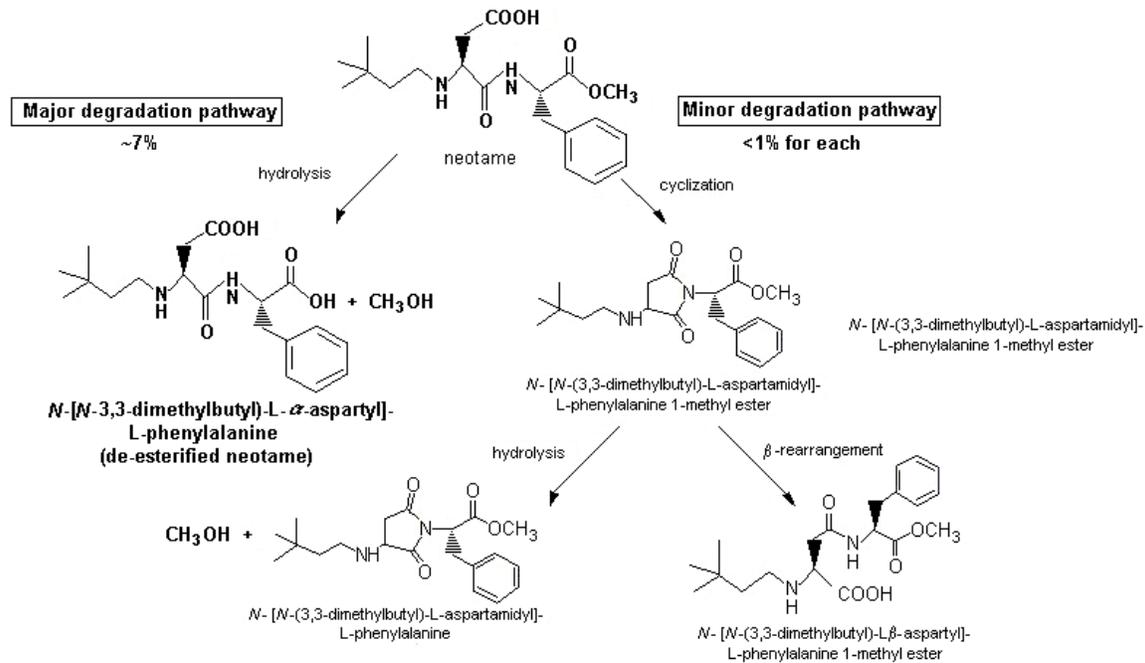


Figura 19.- Productos de degradación del neotame a una concentración de 200 ppm, a pH 3.2, temperatura de almacenamiento de 20°C (16 semanas de almacenamiento). Lui y Cleary, 1998

Dos productos menores de degradación son metanol y fenilalanina, ambos son componentes normales de la dieta. Las cantidades de estos componentes aportados por el consumo de neotame son insignificantes en comparación con las cantidades que se encuentran normalmente en los alimentos.

En condiciones extremas de temperatura y tiempo, dos productos menores adicionales de degradación se detectaron en las bebidas simulacros que contienen una concentración de 200 ppm de neotame. Estas condiciones no son

probables que se desarrollen durante el almacenamiento típico de las bebidas, así como tampoco es muy común esta concentración de edulcorante. El primer producto detectado fue el N-(3,3-dimetilbutil)-L-aspártico, que es un metabolito conocido del neotame, el cual es formado a través de la hidrólisis del péptido o amida. El otro producto de degradación menor fue N-[N-(3,3-dimetilbutil)-L- beta-aspartil]-L-fenilalanina.

En un estudio de dos años llevado a cabo en ratones (Short-term studies of toxicity; Long-term studies of toxicity and carcinogenicity) se evaluó la carcinogenicidad, no hubo un aumento relacionado con el tratamiento en la incidencia de tumores en dosis de hasta 4.000 mg / kg de peso corporal por día. En el estudio de 2 años de carcinogenicidad en ratas expuestas en el útero, no hubo un aumento relacionado con el tratamiento en la incidencia de tumores en dosis de hasta 1.000 mg/kg de peso corporal por día. La toxicidad del neotame en el desarrollo de las especies, se examinó en ratas y conejos a dosis de hasta 1.000 mg/kg de peso corporal por día y 500 mg/kg de peso corporal por día, respectivamente. En ninguna de las dos especies había evidencia alguna de embriotoxicidad o teratogenicidad. En ratas, se produjo un descenso inmediato pero transitorio en el consumo de alimentos que resulta en aumento de peso corporal menor en los animales tratados; sin embargo, no hubo ningún efecto significativo sobre el peso corporal o la ganancia de peso corporal durante la gestación. En los conejos, no hubo ningún efecto significativo en el consumo de alimentos en general, el peso corporal o la ganancia de peso corporal (WHO, 2004).

Los estudios de genotoxicidad han examinado la capacidad de neotame para inducir mutaciones genéticas en células bacterianas y de mamíferos, así como aberraciones cromosómicas en células de ovario de hámster chino in vitro y en células de médula ósea de ratones in vivo. No hubo pruebas de genotoxicidad en cualquiera de las pruebas.

La JECFA ha evaluado diversos parámetros toxicológicos y metabólicos referentes a la ingesta de la sacarina. Estos estudios se han llevado a cabo en diversas especies como ratones, ratas, cuyos, hámsteres, monos, incluyendo al ser

humano. Además, se han hecho estudios relacionados con la fármaco-cinética de este edulcorante en donde se ha encontrado que la principal vía de eliminación (en todas las especies estudiadas) es la orina; los humanos excretan cerca del 70% de la dosis administrada por vía oral, mientras que aproximadamente el 27-29% es excretada por heces. Por otra parte, la excreción de la sacarina está en función de la vía de administración, siendo que cerca del 93% de la dosis inducida por vía intravenosa es eliminada por la orina, y cerca del 4-6% por heces.

Hay una severa discrepancia entre diversos autores inherente al metabolismo de la sacarina. Por una parte, algunos estudios revelan que este edulcorante no es metabolizado por el organismo humano por lo que no hay metabolitos de por medio. Sin embargo, algunos otros autores a través de artículos científicos afirman que hay dos posibles compuestos generados por la ingesta de sacarina: el ácido o-sulfamoiibenzoico y el carboxibencenosulfonato de amonio. Estas dos moléculas han sido encontradas sólo en la orina, no así en heces. Las concentraciones a las cuales han sido identificadas representan menos del 1% de la dosis administrada. Por lo anterior, se cree que estos dos compuestos, posiblemente, son impurezas generadas durante la fabricación del edulcorante. La mayoría de los autores empatan en que la sacarina no es metabolizada por el hombre, por lo que es clasificada como un edulcorante no nutritivo.

El Comité de Expertos de la FAO/OMS evaluó un estudio de dos generaciones llevado a cabo en hámsteres (Special studies on carcinogenicity: feeding studies), sin embargo dicho estudio finalizó antes de lo esperado por lo que los resultados obtenidos no pudieron ser analizados de manera óptima (JECFA, 1978). A pesar de lo anterior, se realizó otro estudio a largo plazo de una sola generación de hámsteres (Special studies on carcinogenicity: other than dietary exposure), a los cuales se les dio un tratamiento con sacarina a dosis de 0.156, 0.312, 0.625 y 1.25%; en este estudio el número de tumores desarrollados en los grupo control fueron similares a los desarrollados por los grupos tratados, además de no encontrarse tumores en el tracto urinario por lo que no se encontró una relación entre carcinomas y la ingestión de sacarina. Resultados negativos para la

incidencia de tumores en vejiga han sido reportados en estudios a largo plazo llevados a cabo con monos machos, ratas machos y ratones machos, esto debido a que los machos parecen ser más susceptibles a desarrollar cáncer de vejiga (JECFA, 1978).

Aunque aún no existe un mecanismo que defina los pasos involucrados en el desarrollo de cáncer de vejiga en ratas machos, un número importante de factores pueden ser identificados durante la proliferación de células cruciales en la vejiga. Estos factores incluyen una alta concentración de iones sodio en el organismo, un pH elevado en la orina, y quizás también factores como la distensión de la vejiga, la osmolaridad de la orina y el sílice contenido en la dieta (lo que puede provocar cristaluria). Además se ha visto el papel potencial de  $\alpha$ -2 $\mu$ -globulina, el cual también ha sido estudiado a través de la comparación entre una cepa de rata que no es capaz sintetizar esta proteína urinaria con una que si lo es. Esta proteína se produce en bajas cantidades en los seres humanos, pero se produce en cantidades alrededor de 100 veces más alta en las cepas de ratas como el Fischer. El estudio indica que la  $\alpha$ -2 $\mu$ -globulina juega un papel importante aumentando la precipitación de cristales de sacarina en la orina, pero es evidente que no es la única influencia en la promoción de tumores en vejiga. Diversos estudios han utilizando iniciadores bien conocidos de la carcinogénesis de vejiga y han demostrado que tanto el aumento del contenido de iones de sodio en la orina y como un alto pH urinario son esenciales para la promoción de los tumores de vejiga en ratas macho.

Se ha discutido acerca de una posible diferencia entre los hombres y las ratas machos inherente al epitelio que se encuentra en la vejiga. Así que la evidencia presentada apunta a una especial susceptibilidad de la vejiga de las ratas machos, no sólo en comparación con el hombre, sino también comparando con vejiga de ratones, hámsteres y monos, ya que en estas últimas especies los tumores de vejiga no son inducidos, incluso mediante la administración de altas dosis de sacarina. Por esta razón consumir alimentos con sacarina no presenta ningún riesgo de desarrollar cáncer de vejiga en hombres.

Otro punto que ha sido analizado en las reuniones de la JECFA fue el tema de la genotoxicidad, ya que varios estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado una ligera clastogenicidad en ratas, especialmente a altas concentraciones. Aunado a lo anterior, la sacarina de sodio fue encontrado débilmente positivo en varios estudios *in vitro* para la inducción de aberraciones cromosómicas en células de hámster chino. Sin embargo, estas respuestas sólo se observaron en altas concentraciones y es probable que sean atribuibles a los desequilibrios iónicos que se sabe causan efectos no específicos. Otro punto importante a tratar es el hecho de que el material utilizado para el tratamiento era conocido por tener impurezas o contaminantes en la elaboración de la sacarina.

Las preguntas sobre el mecanismo y la pertinencia de los tumores de vejiga de ratas machos, evaluados por el SCF en 1985, se han resuelto satisfactoriamente en la medida en que el Comité ahora puede establecer una IDA completa. Con el fin de establecer una ingesta con características inocuas, la JECFA tomó en cuenta dos consideraciones muy importantes: el NOAEL generado durante el estudio de dos generaciones y el factor de seguridad aplicado para los estudios a largo plazo.

Por último, la ADI establecida por la JECFA en 1977 y puesta en práctica en 1985 (0-2.5mg sacarina/kg pc-día) se basó en el NOAEL de 1% en la dieta, equivalente a 500mg sacarina/kg pc-día, usando un factor de seguridad de 200. En respuesta a la nueva información experimental disponible, así como los extensos datos epidemiológicos que demostraban que no había relación entre la ingesta de sacarina y el desarrollo de cáncer de vejiga en humanos, el Comité de Expertos fijó una nueva IDA de 5mg sacarina/kg pc-día, la cual entró en vigor en 1993, año en que fue aprobado este edulcorante por la JECFA.

## CONCLUSIONES

1. Los edulcorantes de alta intensidad que han sido más estudiados debido a su gran uso en la industria de alimentos son el acesulfame de potasio, aspartame, estevia, neotame, ciclamatos, sucralosa y la sacarina.
2. Los ciclamatos están prohibidos sólo por la FDA debido a la discrepancia que existe sobre el posible riesgo de desarrollar cáncer tras su ingestión prolongada.
3. No existen evidencias acerca del posible riesgo a la salud que representa ingerir edulcorantes de alta potencia a las dosis a las cuales son empleados en los alimentos.
4. La enfermedad que ha sido mayormente asociada al consumo de edulcorantes artificiales de alta potencia es el cáncer de vejiga, sin embargo se ha visto que esta enfermedad es inherente a la especie, es decir, sólo se ha desarrollado cáncer de vejiga en ratones machos pero no en humanos.
5. Es difícil realizar estudios que sólo involucren el efecto del edulcorante en el organismo ya que hay diversos factores que también impactan en el desarrollo de alguna enfermedad como lo son el sexo, actividad física, edad, alimentación, etc.

## BIBLIOGRAFÍA

1. American Cancer Society, 2013. A Cancer Journal for Clinicians. Disponible en:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.20140/full> (CONSULTADO 20 OCTUBRE 2014)
2. Ashurst, P., 2008. Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices, 2<sup>nd</sup> Edition. New York: John Wiley & Sons.
3. Barrow, G., 2005. Química General. Edición ilustrada. Distrito Federal: Reverté.
4. Bell, J., 1993. High Intensity Sweeteners a Regulatory Update, Food Technology. Chicago.
5. Bello, J., 2001. Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Segunda edición: Díaz de Santos.
6. Benjumea, M., 2008. Edulcorantes. Caldas, Colombia.
7. Bergstrom, B., Cummings, D. & Skaggs, T., 2008. Aspartame decreases evoked extracellular dopamine levels in the rat brain: An in vivo voltammetry study. Neuropharmacology, US National Library of Medicine National Institute of Health, 53 (8): 967-974.
8. Branen, L., Davidson, M., Salminen, S. & Thorngate III, J., 2002. Food Additives, Segunda Edición. New York: Marcel Dekker. ISBN: 0-8247-9343-9.

9. Bravo, M., Orzaez, T. & Díaz, A., 2004. La miel: Edulcorante natural por excelencia. D.F.: Alimentaria. 253; 25-28. ISSN 0300-5755.
10. Brien, L., 2001. Alternative Sweeteners, Third Edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker. ISBN: 0-8247-0437-1
11. Cagnasso, C., 2007. Edulcorantes no nutritivos en bebidas sin alcohol: estimación de la ingesta diaria en niños y adolescentes, En: Archivo Argentino de Pediatría. 105(6):517-521.
12. Calderón, D., Labra, N., Vences, A., Hernández-Martínez, L., Gómez, J., Dorado, M., Osnaya, N., García, R. & Barragán, G., 2008. Efecto de aspartame, fenilalanina y ácido aspártico sobre los niveles de glutatión y peroxidación de lípidos en cerebro de rata. En: Archivo de Neurociencia en México, 13:2, 79-83.
13. Calzada, R., Ruíz, M., Altamirano, N. & Padrón, M., 2013. Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños, En: Acta Pediátrica México. Distrito Federal. 34:141-153.
14. Camean, A. & Repetto, M., 2012. Toxicología Alimentaria, segunda edición. D.F.: Díaz de Santos.
15. Chang, J., Ma, J., Checklin, H., Young, R., Jones, K., Horowitz, M. & Rayner, C., 2009. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on small intestinal glucose absorption in healthy human subjects. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol; 296(4):735-9.
16. COFEPRIS, 2007. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. En línea: <http://www.cofepris.gob.mx/> (CONSULTADO 2014 11 02)

17. Collings, A., 1989. Metabolism of cyclamate and its conversion to cyclohexylamine. US National Library of Medicine National Institutes of Health. Jan;12(1):50-5.
18. Columbe, R., 1996. Neurobiochemical alterations induced by the artificial sweetener aspartame (NutraSweet). En: Toxicology and Pharmacology, 1, 79-85.
19. Cubero, N., 2008. Edulcorantes, En: Aditivos Alimentarios. Tecnología de los Alimentos. Buenos Aires. 3:24-29.
20. De Bethizy, D., 1999. Principles and methods of Toxicology, 2nd edition. New York: Raven Press.
21. Department of Health and Human Services, 1999. Food and Drug Administration. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption; Sucralose. 21CFR Part 172 [Docket nº 99F-0001]. Federal Register, 64(155):43908.
22. Diario Oficial de la Federación, 1976. Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, Diario Oficial de la Federación 29 de diciembre de 1976, México.
23. Diario Oficial de México, 1999. REGLAMENTO de Control Sanitario de Productos y Servicios, segunda sección, lunes 9 de agosto de 1999. Disponible en internet: [http://ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SSA/Reglamntos/2006/09081999\(1\).pdf](http://ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SSA/Reglamntos/2006/09081999(1).pdf)(CONSULTADO 2014 11 02)
24. Durán, S., 2013. Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. En: Revista Chilena de Nutrición. 40; 3, 309-315.

25. Echavarría-Almeida, S., 2012. Edulcorantes utilizados en alimentos. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Durango.
26. Eells, J., Seme, M., Summerfelt, P. & Henry, M., 1992. Inhibition of retinal mitochondrial function in methanol intoxication. *Toxicologist*. 15: 21.
27. EFSA, 2006. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavorings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to a new long-term carcinogenicity study on aspartame. Question number EFSA-Q-2005-122. Disponible en internet: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/356.pdf> (CONSULTADO 2014 11 16)
28. EFSA, 2008. Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. EFSA-Q-2008-401. Disponible en internet: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1537.htm> (CONSULTADO 2014 11 28).
29. European Commission, 1985. Food safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission, Authorized Sweeteners, DIRECTIVA 94/35/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO.
30. FAO/WHO, 1978. Studies: Calcium cyclamate, sodium cyclamate and cyclohexylamine. Geneva. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je08.htm>
31. FAO, 2000. *Codex Alimentarius*, Requisitos Generales. Volumen 1A.
32. FAO, 2004. Neotame: Chemical and Technical Assessment. 61 st JECFA.

33. FAO/OMS, 2013. Garantía de la Calidad y la Inocuidad de los Alimentos: Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. Suiza.
34. FAO/OMS/ONU, 2005. Necesidades nutricionales y de energía. Serie Informes Técnicos 724, OMS. Ginebra.
35. Finn, J. & Lord, G., 2000. Neurotoxicity studies on sucralose and its hydrolysis products with special reference to histopathologic and ultrastructural changes. *Food Chem. Toxicol.*, 38(2): S7-17.
36. Food & Drug Administration, 2014. Disponible en internet: <http://cfsan.fda.gov/mow/sfoodadd.html> (CONSULTADO 2014 11 02).
37. Furia, T., 1996. CRC Handbook of Food Additives, Second Edition, Volume 1. Washington: CRC Press.
38. Gallus, S., Scotti, L., Negril, E., Talamini, R., Franceschi, S., Montella, M., Giacosa, A., Dal Maso, L. & La Vecchia, C., 2006. Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. *Oxford Journals, Annals of Oncology*. Milan, 18 (1): 40-44.
39. García-Garibay, M. & López-Munguía, A., 1993. Biotecnología Alimentaria. Edición reimpressa. D.F.: Limusa.
40. Garrido, A., Olmo, R. & Castel, C., 2001. Bioquímica Metabólica, edición ilustrada. D.F.: Tebar.
41. Giannuzzi, L. y Molina, S., 1995. Edulcorantes Naturales y Sintéticos: Aplicaciones y aspectos Toxicológicos. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

42. Global Stevia Institute, 2015. Stevia Safety: Acceptable Daily Intake. Disponible en: <http://globalstevia institute.com/health-professionals/safety-food-policy/safety/>
43. González, A., 2013. Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud. En: Revista Mexicana de Cardiología. 24:2; 58-64.
44. Grice, H. & Goldsmith, L., 2000. Sucralose: an overview of the toxicity data. Food Chem. Toxicol., 38(2):S1-6.
45. Grotz, V., 2009. An overview of the safety of sucralose. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 55, 1-5.
46. Inglett, G., 1994. Aspartame: Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker.
47. JECFA, 1967. Toxicological Evaluation of some flavoring substances and non-nutritive sweetening agents. Geneva. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje36.htm>.
48. JECFA, 1976. Toxicological studies: Aspartame. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je03.htm>
49. JECFA, 1978. Toxicological studies: Saccharin Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je25.htm>
50. JECFA, 1981. Absorption, distribution and excretion: Acesulfame. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je02.htm>
51. JECFA, 1982. Toxicological Studies: Cyclamates. Geneva. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je08.htm>

52. JECFA, 1983. Absorption, distribution and excretion and biochemical aspects. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v18je02.htm>
53. JECFA, 1985. Acesulfame. Disponible: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je13.htm>
54. JECFA, 1988. Toxicological studies: Trichlorogalactosucrose. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je05.htm>
55. JECFA, 1989. Toxicological studies: Trichlorogalactosucrose. Disponible en: [http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec\\_2206.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec_2206.htm)
56. JECFA, 1999. Safety Evaluation of Certain Food Additives: Stevioside. Serie 42. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je07.htm>
57. Jiménez, A., 2014. Estudio de la degradación de edulcorantes en agua mediante tratamiento con radiación UV. Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales. Jaén.
58. John, B., Wood, S. & Hawkins, D., 2000. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the rabbit. Food Chemical Toxicologic, 38(2):S111-3.
59. Kille, J., Tesh, J., McAnulty, P., Roos, F., Willoughby, C., Bailey, G., Willby, O. & Tesh, S., 2000. Sucralose: Assessment of teratogenic potential in the rat and rabbit. Food Chem. Toxicol., 38(2):S43-52.
60. Klaassen, A. & Watkins, J., 1986. Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poison. Macmillan Publishing Co., N.Y.

61. Kobylewski, S. & Eckhert, C., 2008. Toxicology of Rebaudioside A: A Review. Department of Environmental Health Sciences and Molecular Toxicology UCLA School of Public Health. Los Angeles, California.
62. Kotsonis, F., Makey, M. & Hjelle, J., 1994. Nutritional Toxicology (target organ toxicology series). Raven Press, NY.
63. Kretchmer, N., 2002. Sugars and Sweeteners. Press and Claire. New York: CRC. ISBN 0-8493-8835-X
64. Lavalle, F., 2008. Metabolismo de los edulcorantes no calóricos, seguridad en su uso. Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León.
65. Lebedev, I., Park, J. & Yaylaian, R., 2010. Popular Sweeteners and Their Health Effects. Worcester Polytechnic Institute. USA.
66. Leeson, S. & Summers, J., 2001. Nutrición Aviar Comercial. Bogotá: Le'Print.
67. Lehninger, A. & Cox, M., 2009. Principios de Bioquímica. S.L.: Omega.
68. López, C., 2001. Bioquímica Metabólica, 2da Edición. Distrito Federal: Tebar.
69. López, L. & Peña L., 2004. Plan estratégico para la creación de una Empresa dedicada a la producción y comercialización de edulcorantes a base de Stevia. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería. Cali.
70. Lord, G. & Newberne, P., 1990. Renal mineralization: A ubiquitous lesions in chronic rat studies. Food Chem. Toxicol., 28(8):449-55.

71. Lui, P. & Cleary, M., 1998. Twenty-six-week stability study of NC-00723 in mock beverages. Study No. NP96-001. Unpublished report from The NutraSweet Kelco Company, Mt. Prospect, Illinois, USA. Submitted to WHO by The NutraSweet Company, Illinois, USA.
72. Lux, G., 2011. Consumo de ciclamato en niños y adolescentes diabéticos que asisten a dos hospitales públicos de la ciudad de Rosario. En: Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, Invenio. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano. 14; 27, 113-133.
73. McNeil Nutritionals, 2006. Splenda® Brand Sweetener: A guide for health care professionals. Washington, McNeil Nutritionals.
74. McOmber, E., Ou, C. & Shulman, R., 2010. Effects of Timing, Sex, and Age on Site-Specific Gastrointestinal Permeability Testing in Children and Adults. Institute National of Health. PMC2830368
75. Magnuson, B., et. al., 2007. Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicology; 37: 629-727.
76. Mahan, L., 1992. Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy Philadelphia: Saunders Company.
77. Manchero, G., 2011. Desarrollo de un prototipo de mermelada light de frutilla ecológica, utilizando sucralosa como edulcorante no calórico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba, Ecuador.
78. Meade, G., & Chen, J., 1997. Sugarcane handbook. 10 ed. New York: Willey-Interscience.

79. Mitchell, H., 2006. Sweeteners and sugar alternatives in food technology. India: Blackwell Publishing. ISBN: 978-1-4051-3434-7.
80. National Digestive Diseases Information Clearinghouse, 2008. El aparato digestivo y su funcionamiento. 693; 13-22.
81. Neiditch, D., Vernon, M. & Wingard, M., 2000. Sucrose-6-éster production process. California University.
82. SECRETARÍA DE SALUD, 2010. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-051-SCFI/SSA1-2010, ESPECIFICACIONES GENERALES DE ETIQUETADO PARA ALIMENTOS Y BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS PREENVASADOS - INFORMACIÓN COMERCIAL Y SANITARIA.
83. O'Brien, L., 2001. Alternative Sweeteners, Third Edition, Revised and Expanded, Volumen 112 de Food Science and Technology. Washington: CRC Press. ISBN 0824704371, 9780824704377.
84. OMS-GLOBOCAN, 2012. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. ([http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx))
85. OMS, 2005. Temas de salud: aspartato y glutamato. Disponible en internet en: [http://www.who.int/topics/food\\_additives/es/](http://www.who.int/topics/food_additives/es/) (CONSULTADO 2014 11 16).
86. Organización Internacional del Azúcar, 2013. Edulcorantes alternativos en un contexto de altos precios del azúcar. Canadá.
87. Quigley, E., Fernandez, B., Mearin, F., Bhatia, J., Hu, J. & Schmulson M., 2009. Síndrome de Intestino Irritable. Una perspectiva Mundial. Organización Mundial de Gastroenterología. Canadá.

88. Ramírez, L., 2003. Neotame: El endulzante de nueva generación En: *Énfasis Alimentación*. 6; 66:73.
89. Renwick, A., Roberts, A., Ford, G., Creasy, D. & Gaunt, I., 1999. The metabolism and testicular toxicity of cyclohexylamine in rats and mice during chronic dietary administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 98(2): 216-229.
90. Rivas, M., 2003. Fenilcetonuria: Bases Moleculares e implicaciones sociales. Instituto Nacional de Ciencias Médicas, Facultad de Medicina. La Habana.
91. Sandritter, W., 1991. *Macropatología: Manual y Atlas para médicos y estudiantes*. D.F.; Reverté.
92. Schiffman, S., 2013. Sucralose, A Synthetic Organochlorine Sweetener: Overview of Biological Issues: *Canadian Journal of Gastroenterology*, 27, 441-480.
93. Schmulson, M., Vargas, J., López, A., Remes, J. & López, C., 2010. Prevalencia y caracterización de los subtipos de SII según los criterios de Roma III, en un estudio clínico, multicéntrico. Reporte del grupo mexicano de estudio para el SII: *Revista de Gastroenterología de México*, 75, 57-71.
94. SCF, 2000. Revised opinion on cyclamic acid and its sodium and calcium salts. SCF/CS/EDUL/192 FINAL. Brussel.
95. Secretaría de Economía, 2012. Memoria Documental. Mercado del azúcar. Distrito Federal.
96. Secretaría de salud, 1994. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-086-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. ALIMENTOS Y BEBIDAS NO ALCOHOLICAS CON MODIFICACIONES EN SU COMPOSICION. ESPECIFICACIONES NUTRIMENTALES.

97. Serra-Majem, L., Bassas, L., García, R., Ribas, L., Inglés, C., Casals, I., Saavedra, P. & Renwick, A., 2003. Cyclamate intake and cyclohexylamine excretion are not related to male fertility in humans. *Food Additives & Contaminants*, 20:12, 1097-1104.
98. Shankar, P., Ahuja, S. & Sriram, K., 2013. Non-nutritive sweeteners: Review and update. Elsevier. *Nutrition* 29 (2013) 1293–1299
99. Smith, J., 1993. *Food Additive User Handbook*, First Published: Blackiean. ISBN: 0-7514-0002-5
100. Soffritti, M., Belpoggi, F., DegliEsposti, D., Lambertini, L. & Tibaldi, E., 2006. First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environ. Health Perspect.* 114(3): 379-385.
101. Soto, A., 2002. Extracción de los principales edulcorantes de la Stevia Rebaudiana. En: *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos*. 20: 5-12.
102. Swan, H. & Karalazos, A., 1995. Las melazas y sus derivados. *Revista Tecnología. Geplacea*. No. 19. 78-82 p. España.
103. Takayama, S., Renwick, G., Johansson, S., Tsutsumi, M., Daldard, D. & Sieber, M., 2000. Long-term toxicity and carcinogenicity study of cyclamate in nonhuman primates. En: *Toxicology Science*; 53:33-9.
104. The American College Of Obstetricians and Gynecologists, 2009. *Diseases of the Digestive System*. 409; 1-7. ISSN 1074-8601.
105. Tisdell, M., 1974. Long-term feeding of saccharin in rats. Inglett, G. E. 145-158. *Avi Publishing Co. Ref Type: Conference Proceeding*.

106. Tollefsen, K., Nizzetto, L. & Hugget, D., 2012. Presence, fate and effects of the intense sweetener sucralose in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*. 438, 510-516.
107. Unión Europea, 2009. Números E. Disponible en Internet: <http://histolii.ugr.es/EuroE/NumerosE.pdf>
108. Valdés, E., 2009. Edulcorantes en Alimentos: aplicaciones y normativas En: *Énfasis Alimentación*, 5,33-38.
109. Weihrauch. M. & Diehl, V.,2005. Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Department of Internal Medicine of the University of Cologne, Cologne. *Annals of Oncology* 15: 1460–1465, 2004
110. Whitehouse, C., Boullata, J. & McCauley, L., 2008. The Potential Toxicity of Artificial Sweeteners. *Continuing Education*: Vol 56:6.
111. Whitmore, A., 1998. FDA approves new high-intensity sweeteners sucralose. *FDA Talk*, 16.
112. WHO, 1980. Toxicological and biochemical studies: Aspartame. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v15je03.htm>
113. WHO, 2004. WHO Food Additives Series: 52. Neotame. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v52je08.htm>
114. WHO, 2009. WHO Technical Report Series 952. Evaluation of Certain Food Additives. Rome, Italy. IV Series.
115. Williams, P. & Burson, J., 1985. *Industrial toxicology (safety and health applications in workplace)*. Van Nostrand Reinhold, N.Y.

116. Wood, S., John, B. & Hawkins D., 2000. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the dog. *Food & Chemical Toxicology*, 38 (Suppl 2):S99-106.
  
117. World Health Organization, 1985. Evaluation of certain food additives (Twenty-fifth report of the Joint FAO/JECFA on Food Additives). Technical Report Series, No. 669 1981.

## ANEXO I: Dosis máximas permitidas de edulcorantes.

Tabla 5.- Dosis máximas permitidas de edulcorantes para distintas categorías de alimentos

Nombre	Categoría de alimento	Dosis máxima (mg/Kg de PT)
Acesulfame de Potasio	<p>Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej. leche con chocolate, cacao, yogur parabeber, bebidas a base de suero).</p> <p>Postres lácteos y a base de grasa (como pudines, yogur aromatizado o con fruta).</p> <p>Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).</p> <p>Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco.</p> <p>Mezclas de cacao (en polvo) y cacao en pasta/torta de cacao.</p> <p>Mezclas de cacao (jarabes).</p> <p>Postres a base de huevo (p. ej., flan).</p> <p>Néctares de frutas.</p> <p>Concentrados para néctares de frutas y hortalizas.</p> <p>Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol).</p>	350
	<p>Preparados dietéticos para adelgazamiento y control del peso.</p> <p>Alimentos dietéticos (p. ej., los complementos alimenticios para usos dietéticos).</p>	450
	<p>Frutas confitadas.</p> <p>Productos de cacao y chocolate.</p> <p>Productos de imitación y sucedáneos del chocolate.</p> <p>Caramelos duros.</p> <p>Decoraciones (p. ej., para productos de pastelería fina), aderezos (que no sean de fruta) y salsas dulces.</p>	500
	<p>Bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas.</p> <p>Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao.</p>	600

	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes.	800
	Confituras, jaleas, mermeladas. Productos para untar a base de cacao, incluidos los rellenos a base de cacao. Caramelos blandos. Turrón y mazapán. Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas	1000
	Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena.	1200
	Complementos alimenticios.	2000
	Goma de mascar.	5000
	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad.	BPM
Ácido Ciclámino (y sales de Na, K, y Ca).	Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol). Postres a base de huevo (p. ej., flan). Postres a base de cereales y almidón (p. ej., pudines de arroz, pudines de mandioca). Mezclas de cacao (jarabes). Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco. Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta). Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero).	250
	Néctares de frutas y hortalizas. Concentrados para néctares de frutas y hortalizas. Alimentos dietéticos (p. ej., los complementos alimenticios para usos dietéticos).	400
	Productos de cacao y chocolate. Productos de imitación y sucedáneos del chocolate. Dulces, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrónes, etc.	500
	Confituras, jaleas, mermeladas. Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).	1000

	Complementos alimenticios.	1250
	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas.	1600
	Goma de mascar.	3000
	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad.	BPM
Aspartame	Frutas en vinagre, aceite o salmuera.	300
	Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero).  Néctares de frutas y hortalizas.  Concentrados para néctares de frutas y hortalizas.  Bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas.  Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao.  Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol).	600
	Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta).  Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).  Confituras, jaleas, mermeladas.  Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco.  Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta.  Mezclas de cacao (jarabes).  Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena.  Postres a base de huevo (p. ej., flan).  Alimentos dietéticos para usos médicos especiales.	1000
	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas.	1700
	Productos análogos a la leche y la nata (crema) en polvo.	2000
	Mezclas de cacao (en polvo) y cacao en pasta/torta de cacao.	3000
	Goma de mascar.	10000
	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad.	BPM

Neotame	Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero).  Sopas y caldos.	20
	Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).  Mezclas de cacao (jarabes).  Postres a base de cereales y almidón (p. ej., pudines de arroz, pudines de mandioca).  Alimentos dietéticos para usos médicos especiales.  Bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas.  Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol).	33
	Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao	50
	Salsas emulsionadas (p. ej., mayonesa, aderezos para ensaladas).  Alimentos dietéticos (p. ej., los complementos alimenticios para usos dietéticos),	65
	Confituras, jaleas, mermeladas.  Salsas no emulsionadas (p. ej., salsa de tomate "ketchup", salsas a base de queso, salsas a base de nata (crema) y salsas hechas con jugo de carne asada "gravy").	70
	Productos de cacao y chocolate.	80
	Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta).  Frutas en vinagre, aceite o salmuera.  Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco.  Productos para untar a base de cacao, incluidos los rellenos a base de cacao.	100
	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas.	130
	Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena.	160
	Dulces, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrónes, etc.	330
Goma de mascar.	1000	

	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad	BPM
Sacarina (y sus sales de Na, K y Ca)	Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p.ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero).  Mezclas de cacao (jarabes).  Néctares de frutas.  Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol).	80
	Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta).  Postres a base de grasas.  Postres a base de huevo (p. ej., flan).  Aperitivos listos para el consumo.	100
	Frutas en vinagre, aceite o salmuera.  Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas.  Bebidas no alcohólicas.	170
	Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).  Confituras, jaleas, mermeladas.  Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco.  Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao.	200
	Productos de cacao y chocolate.  Productos de imitación y sucedáneos del chocolate.  Dulces, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrone, etc.	500
	Goma de mascar.	2500
	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad.	BPM
	Salsas y productos similares.	350
	Frutos secos.	500
	Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero).  Bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas.  Bebidas alcohólicas aromatizadas (p. ej., cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol).	600

Stevia	Mezclas de cacao (en polvo) y cacao en pasta/torta de cacao. Productos lácteos fermentados. Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta). Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas). Confituras, jaleas, mermeladas. Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco. Postres a base de grasas. Postres a base de huevo (p. ej., flan). Dulces, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrone, etc. Productos de cacao y chocolate. Productos de imitación y sucedáneos del chocolate. Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena.	1000
	Productos de cocoa y chocolate.	2000
	Goma de mascar	5500
	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad.	BPM
	Frutas en vinagre, aceite o salmuera.	180
	Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero). Néctares de frutas y hortalizas. Concentrados para néctares de frutas y hortalizas. Bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas. Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao.	300

Sucralosa	Postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta).	400
	Frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas).	
	Confituras, jaleas, mermeladas.	
	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los aderezos de fruta y la leche de coco.	
	Mezclas de cacao (jarabes).	
Postres a base de cereales y almidón (p. ej., pudines de arroz, pudines de mandioca).		
	Mezclas de cacao (en polvo) y cacao en pasta/torta de cacao.	580
	Frutas confitadas.	800
	Productos de cacao y chocolate.	
	Productos de imitación y sucedáneos del chocolate.	
	Goma de mascar.	5000

PT: Producto terminado

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura

Codex Alimentarius 2007.

## ANEXO II: Estudios toxicológicos de los edulcorantes de alta potencia más importantes en la industria de alimentos llevados a cabo por diversas instituciones como FDA, JECFA.

Tabla 1.- Estudios llevados a cabo por JECFA respecto a la toxicidad del ácido ciclámico y sus sales de potasio y sodio.

Condiciones de estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Ratas hembra. Vía de administración oral. Dosis: 0.46, 0.93 y 1.85 g/Kg de peso corporal	Vía de excreción. Tiempo de excreción.	17-30% fue excretado por orina. 70-80% fue excretado por heces.	Hwang, 1966.*
Ratas hembra y macho. Vía de administración oral. Dosis: 1%, 5% y 10% de la dieta.	Vía de excreción.	1%: 17/70-orina/heces 5%: 14/46-orina/heces 10%: 15/30-orina/heces	Derse y Daun, 1966*
Ratas hembra. Vía de administración oral. Dosis: 0.714 y 0.909 g/Kg de peso corporal.	Modificación estructural del ciclamato.	El 99% de la radiactividad excretada en orina estaba en forma de ciclamato sin cambios.	Sonders y Millers, 1966*
Especies: ratón, ratas, perros y monos.	Absorción y efectos laxantes.	No se absorbió más del 70% del ciclamato.  Dosis para efectos laxantes: 2.8g/Kg de peso corporal.	Taylor et. al., 1967*
Ratas destetadas. 22 semanas de estudio. Dosis: 0, 5 y 10% de ciclamato en la dieta.	Absorción.	No se absorbió cerca del 76.3% del ciclamato.	Sonders et. al., 1967*
6 ratas macho. Dosis: 1, 2 y 4% de ciclamato en la dieta.	Aporte calórico y efectos laxantes.	No se observó aumento de peso. Se observó efecto laxante en dosis del 4%.	Frost & Main, 1967*
40 ratas hembra. 4 meses de estudio. Dosis: 0 y 5% de ciclamato en la dieta.	Hiperplasia en células ganglionares.	Sin efecto observado.	Bernier, 1967*
Hombres sanos. Dosis: 1, 5 y 12g/Kg de peso corporal. 21 días de estudio. Vía de administración oral.	Efecto laxante y otros efectos nocivos.	Se observaron heces blandas sin efecto significativo en la frecuencia de la evacuación intestinal.	Wisconsin, 1965*
3 hombres. Dosis: 2 y 5g de ciclamato/día. 18 días de estudio. Vía de administración oral.	Vía de excreción.  Metabolismo de P, Ca, N, Na, K.	Del 31-37% fue excretado por vía urinaria. 50-65% fue excretado por heces.  Sin efectos en el metabolismo de O, Na, N, K, y Ca.	Schoenberger, 1966**
Humanos. Dosis: 1 g vía intravenosa. 5g vía oral. 14 días.	Excreción urinaria.	Vía intravenosa: 13%  Vía oral: 31%.	Dedmon, 1961**

164 niños. Dosis: 0, 1 y 1.5g ciclamato/10 Kg de peso corporal-día. Vía de administración: oral. 24 semanas.	Función hepática. Vista periférica. Presión arterial.	Ningún efecto adverso observado.	Freese, 1967**
Hombres sanos. Dosis: 5g/día. 14 días. Vía de administración: oral.	Niveles de sodio sérico. Niveles de urea. Células sanguíneas.	Ningún efecto adverso observado.	Berndt y Calandra, 1966*.
20 hombres. Dosis: 5.7 g ciclamato/día durante 21 días. 7-12g ciclamato/día durante 14 días.	Células sanguíneas. Excreción.	Ningún efecto adverso observado.	NAS-NRC, 1975**
6 hombres. Dosis: 5g ciclamato/día. 2 meses.	Función cardíaca, hepática, renal, hematopoyética.	Ningún efecto adverso observado.	Schoenberger, 1967*
30 hombres adultos. Dosis: 1.8-6.42 g ciclamato/día. 48 semanas. Vía de administración oral.	Función hepática, renal, tiroidea.	Ningún efecto adverso observado.	Radding, 1977**
42 pacientes con diabetes. Dosis: 0.21-3.1g de ciclamato/día. 6-9 meses.	Niveles de urea. Recuento de células sanguíneas. Índice glucémico. Actividad de la fosfatasa alcalina.	Ligero aumento del índice glucémico en ayunas. Ligera reducción de la actividad de la fosfatasa alcalina. No se detectaron diferencias en los niveles de urea ni en el recuento de células sanguíneas.	Stern, 1977**
21 pacientes con enfermedad renal crónica. Dosis: 5.3g de ciclamato/día. 6 meses.	Otros efectos.	No se observó ningún efecto adverso.	Kark, 1977**
Ratas hembra. Dosis: 100mg ciclamato/Kg d peso corporal.	Distribución del edulcorante en el organismo	A los 5 minutos se reportó distribución uniforme con cierta concentración en pulmones, riñones y glándula salival.  A las 7 horas se concentró en la zona intestinal, glándulas salivales y una zona no identificada del cerebro.  A las 48 horas se detectó mayor concentración en la zona gastrointestinal.	Schechter y Roth, 1981**
Ratas embarazadas.	Absorción en placenta.	Sí cruzó la placenta.	Abbott Laboratories, 1981**
Ratas macho. Dosis: 1.4-3.2g de ciclamato/kg de peso corporal. Vía de administración: intraperitoneal.	Tiempo de excreción. Vías de excreción.	El 72% del ciclamato de sodio fue excretado por orina 5 horas después de la ingestión (sin sufrir alteraciones).	Taylor et. al., 1981**
Ratas macho. Dosis: 80-120mg/kg peso corporal durante 5 días. Vía de administración: oral.	Tiempo de excreción.	El 85% de excreto en los primeros 4 días después de la última dosis. Otro 3% se excretó al quinto día después de la última dosis.	Taylor et. al., 1981**
Ratas macho. Dosis: 0.5, 1.0 y 2g de ciclamato/kg de peso	Vía de excreción.	Se excreta cerca del 25% en orina y 65% en heces.	Taylor et. al., 1981**

corporal			
Ratas. Dosis: 2 y 4g de ciclamato/kg de peso corporal.	Absorción.  Tiempo de absorción y de excreción.	Después de 8 horas se absorbe cerca del 18-25% del ciclamato ingerido y se excreta 75-80%.	Taylor et. al., 1981**
Ratas. Dosis: 1% de ciclamato en la dieta. 54 días. Vía de administración: oral.	Vías de excreción.  Transformación del ciclamato.	El 77 fue excretado por heces, el 22% en orina.  Cerca del 98-99% del ciclamato excretado no sufrió alteraciones.	Miller et. Al., 1982**
Ratas. Dosis: 1% de ciclamato en la dieta. Vía de administración: oral.	Metabolismo basal.	No se encontraron alteraciones en el metabolismo basal.	Richards et. al., 1981**
Conejos. Vías de administración: oral, intraperitoneal e intravenosa.	Vías de excreción.	El ciclamato de sodio es excretado en orina después de 12 horas.	Audrieth y Sveda, 1974*
Perros. Dosis: 600mg/kg de peso corporal. Vía de administración: oral.	Vías de excreción. Tiempo de excreción.	El 70% se elimina por orina en las primeras 8 horas. El 85% es excretado por orina en las primeras 24 horas.	Taylor et. al., 1981**
Perros. Dosis: 1g de ciclamato/Kg de peso corporal durante 9 días.	Acumulación en diversos tejidos y órganos.	Nueve días después de la última dosis se detectó 0.005% de ciclamato en el hígado, bazo, pulmones y páncreas.	Miller et. al., 1980**
Humanos. Dosis: 1-3 g de ciclamato de sodio al día. Vía de administración: oral.	Excreción de ciclohexilamina.	Cerca del 0.7% del ciclamato es excretado como ciclohexilamina.	Kojima, 1980**
Humanos. Dosis. 3g de ciclamato al día. Vía de administración: oral.	Excreción de ciclohexilamina.	El 0.8% de la dosis administrada es excretada como ciclohexilamina.	Leahy, 1980**
40 hombres. Dosis: 3g de ciclamato de sodio al día. Vía de administración: oral	Excreción de ciclohexilamina.	39 sujetos excretaron el 0.8% de la dosis ingerida como ciclohexilamina. Un sujeto excretó 7.2% del ciclamato ingerido como ciclohexilamina.	Huntingdon Laboratories, 1980**
Ratas y ratones. Vía de administración: oral.	Efectos laxantes.	La dosis en que se observaron efectos laxantes fue de 1.9g/kg de peso corporal.	Hwang, 1980*
Perros. Dosis: 1, 2 y 4g/kg de peso corporal al día. 30 días.	Funciones hepática, pulmonar, sanguínea, peso corporal y estudios óseos.	No se mostraron efectos adversos.	Hwang, 1980*
Perros. Dosis. 0.5g de ciclamto/kg de peso corporal. 11 meses.	Análisis de orina. Función hepática y renal, peso corporal, análisis de hemoglobina.	No se detetaron efectos adversos.	Taylor et. al., 1981**
14 ratas hembras apareadas. Dosis: 0, 5 y 10g/kg de peso corporal. Vía de administración: intragástrica.	Estudios de embriotoxicidad.	No se encontraron efectos adversos a os 18 días de gestación.	Lorke, 1981**.
24 ratas hembras embarazadas. Dosis: 50, 100 y 150mg de ciclamato/kg de peso corporal. 363 controles.	Estudios de teratogenicidad.	No se encontraron diferencias con respecto a los controles.	Bein, 1977**

Hembras conejo embarazadas. Dosis. 1g de ciclamato/kg de peso corporal. 30 controles.	Estudios teratogenicidad.	de	No se encontraron diferencias con respecto a los controles.	Abbott Laboratories, 1977**
Perras embarazadas. Dosis: 0.45, 0,9 y 1.35g de ciclamato/kg de peso corporal.	Estudios teratogenicidad.	de	No se mostraron efectos adversos.	Abbott Laboratories, 1979***
35 ratas macho y 45 ratas hembra. Dosis: 0.5, 1 y 2g de ciclamato/kg de peso corporal. Tiempo del estudio: toda la vida.	Excreción ciclohexilamina.	de	Se clasificaron a las animales en estudios como: 1) no convertidores de ciclohexilamina (menos del 0.1% del ciclamato ingerido era transformado a CHA), 2) convertidores (0.1-0.7% del ciclamato ingerido es metabolizado a CHA) y 3) altos convertidores (1% o más del ciclamato en la dieta es transformado a CHA).	Oser et. al., 1988***
40 hombres. Dosis: 5g de ciclamato.	Excreción ciclohexilamina.	de	La tasa media de excreción de ciclohexilamina fue del 0.8%.	Goldberg, 1978**
49 niños. Dosis: 516mg de ciclamato/día. 4 días.	Excreción ciclohexilamina.	de	La tasa de conversión de ciclamato a ciclohexilamina es del 0.85%.	Sanders, 1980***
138 adultos. Dosis: 1g de ciclamato/ día. 8 días.	Excreción ciclohexilamina.	de	La tasa de conversión de ciclamato a ciclohexilamina es del 0.81%.	Sanders, 1980***

\*JECFA, 1967. \*\*FAO/WHO, 1978. \*\*\*JECFA, 1982.

Tabla 2.-Estudios realizados por la JECFA en cuanto a la toxicidad del aspartame se refiere.

Condiciones del estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Incubación a 37°/15 min de 10mg e aspartame con 0.4mg de pepsina con HCl y KCl.	Actividad esterasa y peptidasa de la pepsina.	No se mostraron actividades de esterasa ni peptidasa.	JECFA, 1976*
Incubación de aspartame con jugo gástrico de perro.	Hidrólisis de la molécula de aspartame.	No se mostró ninguna hidrólisis.	JECFA, 1976*
Ratas macho de 300g. Dosis: 5mg de aspartame. Vía de administración: oral.	Absorción del aspartame. Tiempo de absorción del aspartame.	Alrededor del 50% de la dosis se absorbe en las primeras 4 horas. 28-30% permaneció en el tracto gastrointestinal, principalmente en el colon.	JECFA, 1972*
Ratas. Una sola dosis de aspartame.	Vías y tiempo de excreción.	El 5% es excretado. La mayor parte de la dosis es excretada durante los dos primeros días.	JECFA, 1972*
Ratas macho de 300-350 g de peso corporal. Dosis: 20-30 mg de aspartame/kg de peso corporal. Vía de administración: oral.	Metabolitos del aspartame.	CO <sub>2</sub> : 53-73% de metanol y 48-64% de aspartame. Orina: 2-7.5% de metanol y 1.4-2.4	JECFA, 1972*

		de aspartame. Heces: 0.5-1% de metanol y 0.02-0.09% de aspartame.	
Ratas macho de 300-350 g de peso corporal. Dosis: 20-30 mg de aspartame/kg de peso corporal. Vía de administración: oral.	Metabolitos del aspartame.	CO <sub>2</sub> : 13-24% de fenilalanina y 7-15% de aspartame.  Orina: 2.65-4.62% de fenilalanina y 0.7-4.3% de aspartame.	JECFA, 1972*
Ratas macho. Dosis: 27mg/kg pc durante 5 días. Aspartame/DCP 3:1.	Vías y tiempos de excreción.	El 12-23% de la dosis total administrada de excretó vía CO <sub>2</sub> .  El 2-4% de excreta por orina en un máximo de 24 horas.  Del 1.6-3.1% se excreta por medio de heces.	JECFA, 1972*
Ratas macho. Dosis: 27mg/kg pc durante 5 días. Aspartame/DCP 3:1.	Niveles en sangre.	Se registró un máximo de 0.7% de la dosis en sangre.	JECFA, 1972*
Ratas jóvenes macho. Dosis: 20mg/kg pc. 5 días.	Vías y tiempos de excreción.	Del 11-26% se excretó vía CO <sub>2</sub> , siendo que el 8.18% se eliminó en los primeros 30 minutos.  1-3.7% de eliminó por orina.  Cerca del 4.4-7.49% se excretó por heces.	JECFA, 1974*
Ratas jóvenes macho. Dosis: 20mg/kg pc. 5 días.	Niveles en sangre.	Se detectaron trazas de fenilalanina y tirosina en sangre.	JECFA, 1974*
Ratas macho. Dosis: 0.85% de fenilalanina o 1.5% de aspartame en la dieta.	Estudios sanguíneos y actividad de la fenilalanina hidroxilasa hepática.	Los niveles de fenilalanina y tirosina en sangre estaban directamente relacionados con la concentración de la fenilalanina hidroxilasa hepática.	JECFA, 1974*
Conejos hembra. Dosis: 20mg aspartame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Niveles de metabolitos en plasma. Vías de excreción.	En CO <sub>2</sub> se encontró del 2.9-10.4% de aspartame. Se excretó vía heces fecales alrededor del 2.9-5.6% de aspartame. Se encontró fenilalanina y tirosina en plasma.	JECFA, 1974.*
Conejos macho. Dosis: 20mg aspartame/kg pc-día. 5 días Vía de administración: oral.	Niveles de metabolitos en plasma.	Se encontraron niveles de fenilalanina y tirosina en sangre.	JECFA, 1974.*
Hembras conejo embarazadas. Dosis: 6% de aspartame. Vía de administración oral.	Niveles de fenilalanina y tirosina en fetos.	Se encontró una relación de fenilalanina plasma fetal/ fenilalanina plasma materno de 1.58 y 1.40 para los conejos control y los tratados, respectivamente. Para la tirosina, la proporción fue de 2.29 en control y 2.06 para los animales tratados. Se encontraron niveles mayores de fenilalanina en el líquido amniótico de los animales tratados respecto con los controles.	JECFA, 1974.*

Perros. Dosis: 0.068mmol de aspartame o fenilalanina/kg pc. Vías de administración oral, intravenosa.	Vías de excreción. Estudios sanguíneos.	Se encontraron niveles en orina para fenilalanina y aspartame de 5.32 y 2.63, respectivamente. En heces se encontraron niveles de 9.2 para fenilalanina y 6.17 para aspartame. Se encontraron niveles de fenilalanina y tirosina en sangre.	JECFA, 1974*
Hembras mono. Dosis: 0.068mmol de metanol, fenilalanina o aspartame/kg pc. Vía de administración: oral.	Vías de excreción. Estudios sanguíneos.	Se encontraron concentraciones de 72-88% de metanol en el CO <sub>2</sub> expulsado, así como 9-21% de fenilalanina y 13.17-22.60% de aspartame por la misma vía de eliminación. Se eliminó 3.17% de metanol, 1.3-4.6% de fenilalanina y de 1.5-3.7% de aspartame por orina. Se encontraron niveles bajos de metanol y aspartame en sangre.	JECFA, 1974*
Hembras mono. Dosis: 0.068mmol de ácido aspártico o aspartame/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Vías de excreción. Estudios sanguíneos.	Se eliminó por medio de CO <sub>2</sub> el 77% de aspartame y 67% de ácido aspártico. La excreción fecal significó menos del 2% para ambos compuestos. La eliminación vía urinaria fue del 2.1% y 3.8% para aspartame y ácido aspártico, respectivamente. Se encontraron niveles importantes de ácido aspártico en sangre.	JECFA, 1974*
400 huevos fértiles. Tres grupos control. Dosis: 0.25mg de aspartame, 0.50mg de aspartame, 0.5mg de ciclamato de sodio, 2.5mg de sacarosa, 2.5mg de ciclamato de calcio.	Estudios teratológicos.	Las tasas de mortalidad fueron del 40% para los grupos control, 60% para los dosificados con sacarosa, los tratados con ciclamato y aspartame fue del 80%. No se encontraron anomalías morfológicas en los grupos tratados con sacarosa, aspartame y los controles.	JECFA, 1970*
14 ratas macho y 30 ratas hembra. Dosis: 2 o 4g de aspartame/kg pc-día. Durante todo el periodo de celo, gestación y lactancia. Vía de administración: intragástrica.	Estudios teratológicos.	No hubo diferencias significativas entre la tasa de supervivencia entre los grupos control y los tratados.	Schroeder, et. al., 1972**
Ratas hembra. Dosis: 0, 1, 2 o 3 g de una mezcla 3:1 aspartame/dicetopiperazina/ kg pc-día.	Estudios teratológicos.	No se observaron diferencias biológicamente significativas en el grupo control y los tratados.	Schroeder, et. al., 1972**
Salmonella. Dosis: 10-5000mg de aspartame.	Estudios de mutagenicidad.	No se observó ningún tipo de toxicidad.	Simmon y Shan, 1978**
Ratas macho. Dosis: 10-50mg de aspartame/kg pc-día.	Estudios citogenéticos.	No se observaron aberraciones cromosómicas en los animales tratados con aspartame.	Simmon y Shan, 1978**
200 ratas albinas. Dosis: 4-4.4mg de aspartame.	Estudios de carcinogenicidad.	Se inspeccionaron diversos órganos como vejiga, pulmones, etc. y no se encontraron evidencias de neoplasias.	Bryan, 1974**
Ratas macho. Dosis: 10mg de dicetopiperazina.	Metabolismo. Absorción.	Cerca del 40-50% de la dosis ingerida estaba presente en el colon y otra parte en el estómago (8-18%). Menos del 5% se	JECFA, 1974**

		encontró en el intestino delgado. Se detectaron trazas en sangre (menos del 0.1%).	
Ratas macho. Dosis: 10mg de dicetopiperazina.	Absorción y distribución.	Se encontraron trazas de dicetopiperazina en pulmones y bazo, cantidades mayores en intestino delgado, estómago y colon. Cantidades pequeñas pero significativas en hígado y sangre.	JECFA, 1974**
300 ratas macho. Dosis: 10mg dicetopiperazina.	Excreción.	Alrededor del 1% de la dosis administrada se elimina por la bilis.	JECFA, 1974**
Incubación de dicetopiperazina en condiciones aeróbicas y anaeróbicas.	Degradación bacteriana.	No se encontró degradación bacteriana bajo ninguna condición de oxígeno.	JECFA, 1974**
Hombres varones de entre 25-55 años. Dosis 97 mg de dicetopiperazina. Vía de administración: oral.	Vías de excreción. Metabolitos generados.	12% de la dosis administrada fue eliminada por orina. 29% de la dicetopiperazina ingerida fue encontrada en forma de fenilacetilglutamina.	JECFA, 1974**
10 ratones machos. Dosis: 0 y 1000mg de dicetopiperazina/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios a corto plazo. Apariencia física, comportamiento, peso corporal.	No se encontraron diferencias significativas entre los animales en estudio y el grupo control.	Rao et. al., 1971**
Ratones machos. Dosis: 0, 50, 100 0 200 mg de dicetopiperazina o aspartame/kg pc.	Capacidad motora.	No se encontraron diferencias significativas en cuanto a fallas motoras entre los animales en estudio y los grupos control.	JECFA, 1974**
16 ratones macho. Dosis: 1000mg de aspartame o dicetopiperazina/kg pc.	Hipnosis hexobarbital.	Las dosis estudiadas de aspartame no mostraron ningún efecto adverso. La dicetopiperazina causó un aumento significativo en el tiempo de hipnosis a la dosis de estudio más alta.	JECFA, 1974**
Ratones machos adultos. Dosis: 0, 20 o 200mg de aspartame o dicetopiperazina/kg. Vía de administración: oral e intraperitoneal.	Actividad anticolinérgica.	No se observó algún efecto adverso.	JECFA, 1974*
Seis grupos de 4 ratas. Dosis: 100mg de aspartame o dicetopiperazina/ kg pc.	Efecto diurético.	No se mostraron efectos diuréticos.	JECFA, 1974*
Ratas macho adultas. Dosis: 100mg de dicetopiperazina o aspartame/kg pc. Vía de administración intragástrica.	Efecto sobre la glucosa en sangre.	Ni el aspartame ni la dicetopiperazina mostraron efectos sobre la glucosa en sangre.	JECFA, 1974*
Ratones hembra. Dosis: 0.1 o 0.3g de aspartame o dicetopiperazina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios endocrinológicos: actividad estrogénica.	Ni el aspartame ni la dicetopiperazina mostraron efectos sobre la actividad estrogénica.	Nutting, 1972**
31 hombres y 38 mujeres. Dosis: 160.7g de aspartame a lo largo del estudio. Vía de administración: Oral.	Absorción y distribución en el organismo.	Se llevó a cabo un hemograma completo, análisis completo de orina, análisis de protombina parcial, tiroxina, bilirrubina, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol total, triacilgliceroles; no se encontraron diferencias significativas entre el	Langlois, 1972*

		grupo control y los individuos tratados.	
Niños y adolescentes normales. Dosis: 39.5-58.1 mg de aspartame/kg pc. Vía de administración: oral.	Absorción y distribución en el organismo.	Se llevó a cabo un hemograma completo, análisis completo de orina, análisis de protombina parcial, tiroxina, bilirrubina, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol total, triacilgliceroles; no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y los individuos tratados.	Frey, 1972*

\*JECFA, 1976. \*\*WHO, 1980.

Tabla 3.- Estudios de toxicidad de acesulfame de potasio llevados a cabo por la JECFA.

Condiciones del estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Ratas y perros. Dosis: 10mg de aspartame/kg pc.	Absorción, distribución y excreción.	Los niveles máximos de edulcorante en sangre fueron de 0.75 y 6.56mg/mL en ratas y perros, respectivamente. Cerca del 82-100% de la dosis administrada a perros y a ratas es excretada en orina. La recuperación total del acesulfame de potasio es cerca del 100%.	Kellner y Cristo, 1985*
Ratas. Dosis: 10 dosis diarias de 10mg/kg. Vía de administración: oral.	Distribución y acumulación en tejidos.	La concentración en plasma fue de 0.4nmol/g, 0.4nmol/g en el hígado y menos del 0.2nmol/g en otros órganos.	Kellner y Cristo, 1985*
Ratas. Dosis: 10 mg/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Excreción y vida media en plasma.	El 100% se excretó por orina. La vida media del acesulfame de potasio en sangre fue de 0.23 horas.	Kellner y Cristo, 1985*
Ratas macho y hembra. Dosis: 15mg/kg de pc. Vías de administración: oral. Sesenta días.	Vías y tiempo de excreción.	Por orina se excretó del 95-98% de la dosis administrada. Cerca del 0.95-2.86% fue eliminado por heces fecales. En total se recuperó del 96.3-99.2% de la dosis. El acesulfame se elimina en 24 horas.	Volz y Eckert, 1985*
Ratas macho y hembra. Dosis: 1% en la dieta. Siete días.	Vías y tiempo de excreción.	La excreción urinaria fue del 89-93% en un período de 24 horas.	Volz et., al., 1983*
Ratas preñadas. Dosis: 10mg/kg pc.	Absorción, distribución y excreción.	El comportamiento cinético del acesulfame fue similar en las ratas en tratamiento y el grupo control. Cuando los niveles más altos de acesulfame en sangre materna eran máximos, en los fetos fue bajo. La placenta tenía niveles más elevados de acesulfame que el feto.	Kellner y Eckert, 1983*
Ratas lactantes. Dosis: 10.6mg/kg pc. Vía de	Excreción. Vida media en leche y sangre.	Las vidas medias biológicas fueron similares en leche y sangre; 5.6 horas y 4 horas, respectivamente.	Kellner y Eckert, 1983*

administración: oral.		Se estima que alrededor del 1.6% de la dosis administrada fue excretada por la leche.	
Ratas y perros. Dosis: 10mg/kg pc. Vía de administración: oral.	Biotransformación.	Se analizaron heces y orina por cromatografía y espectrofotometría de masas, detectando únicamente acesulfame de potasio.	Volz, 1985**
Estudios in vitro de acetoacetamida.	Efecto sobre enzimas.	La acetoacetamida no funciona como sustrato para la tiolasa, Beta-hidroxiacil-CoA-deshidrogenasa o Beta-hidroxi-butirato-deshidrogenasa.	Volz, 1980**
Estudios in vitro de acesulfame de potasio.	Efecto sobre enzimas.	A concentraciones de 180mg de acesulfame/mL no hay efectos de inhibición sobre la enzima anhidrasa carbónica.	Vogel, 1984**
Cuatro grupos de 10 ratas macho y 10 ratas hembra. Dosis: 0, 1, 3 y 10% de acesulfame en la dieta. Vía de administración: oral.	Peso corporal, análisis de sangre (contenido de hemoglobina, glóbulos blancos, hematocrito), análisis de orina (pH, glucosa, proteínas, sangre, cetonas) fosfatasa alcalina, proteína total en suero y albúmina. Se registró el peso para corazón, riñones, hígado, bazo, cerebro, ovarios/testículos, timo, tiroides, glándulas suprarrenales. Examen histológico de pulmones, glándulas salivales, tráquea, aorta, músculo esquelético, páncreas, vejiga, próstata, epidídimo, útero, glándula mamaria, esófago, estómago, duodeno, íleon, colon.	Los animales tratados con dosis del 10% registraron menor ganancia en peso durante las 4 primeras semanas, también hubo leve diarrea. Se observó un ligero aumento en la concentración de hemoglobina en los machos con dosis de 10%. Los pesos relativos de hígado y riñones también fue ligeramente superior para los animales que consumieron 10% de acesulfame en la dieta. El análisis de orina, enzimas y suero no se vieron afectados.	Sinkeldam, 1984**
Cuatro grupos de 4 perros macho y 4 hembras. Dosis: 0, 0.3, 1.0 y 3.0% de acesulfame de potasio en la dieta. Vía de administración: oral.	Peso corporal, análisis de sangre (contenido de hemoglobina, glóbulos blancos, hematocrito), análisis de orina (pH, glucosa, proteínas, sangre, cetonas) fosfatasa alcalina, proteína total en suero y albúmina. Se registró el peso para corazón, riñones, hígado, bazo, cerebro, ovarios/testículos, timo, tiroides, glándulas suprarrenales. Examen histológico de pulmones, glándulas salivales, tráquea, aorta, músculo esquelético, páncreas, vejiga, próstata, epidídimo, útero, glándula mamaria, esófago, estómago, duodeno, íleon, colon.	No se mostraron efectos adversos en ninguna dosis estudiada, por tanto se asignó una ADI para perros de 900mg de acesulfame/kg pc-día.	Reuzel, 1984**
Grupos de 100 ratones machos y 100 ratones hembras. Dosis: 0. 0.3, 1 y 3% de acesulfame en	Estudios de carcinogenicidad	No se mostraron efectos de carcinogenicidad en ninguna de las	Beems, 1986**

la dieta. Vía de administración: oral.		dosis estudiadas.	
Grupos de 60 ratas hembras y 60 ratas machos. Dosis; 0, 0.3, 1 y 3% de acesulfame de potasio en la dieta. Vía de administración: oral. Ciento veintitrés semanas.	Estudios de carcinogenicidad	No se observaron efectos adversos en cuanto a carcinogenicidad, Los efectos observados fueron disminución de peso corporal en animales expuestos a la dosis más alta.	Sinkeldam, 1984**
Grupos de 60 ratas hembras y 60 ratas machos. Dosis; 0, 0.3, 1 y 3% de acesulfame de potasio en la dieta. Vía de administración: oral. Ciento veintitrés semanas.	Estudios de carcinogenicidad en las dosis de 0.3 y 1%.	No se observaron cambios histopatológicos ni existió evidencia en un aumento en la incidencia o en alteración biológica en neoplasias.	Newman, 1982**
Ratas preñadas. Dosis: 0, 0.3, 1 y 3% de acesulfame en la dieta. Vía de administración: oral.	Estudios teratogénicos.	No se mostraron efectos adversos a ninguna dosis estudiada.	Koëter, 1985**
Ratas hembras. Dosis: 0, 0.3, 1 y 3% de acesulfame en la dieta.	Estudios de reproducción (número de crías por camada, mortalidad, anomalías, peso corporal, fertilidad de hembras).	Sólo se observó una tasa de crecimiento menor en ratas nacidas de madres tratadas con 3% de acesulfame en la dieta.	Sinkeldam, 1986**
Conejos hembra. Dosis: 0, 100, 300 y 900mg de acesulfame/kg pc. Vía de administración: intragástrica.	Estudios de embriotoxicidad.	No se mostraron efectos adversos a ninguna dosis estudiada.	Baeder, 1987**
Ratas hembra y ratas macho. Exposición a productos de pirólisis de acesulfame de potasio a 250°C. Vía de administración: nasal.	Estudios de exposición a productos de pirólisis de acesulfame de potasio.	No se mostraron efectos adversos.	Hollander, 1986**
Ratas macho y hembra. Dosis: 10 dosis diarias de 1mg de acetoacetamida/kg pc. Vía de administración: oral.	Absorción, metabolismo y distribución.	Los niveles máximos de acetoacetamida en sangre se alcanzan en 0.5-1 hora. Cerca del 97% es excretado por orina y heces (90% en orina).	Eckert, 1989***
Humanos. Dosis: 50 mg de acetoacetamida. Vía de administración: oral.	Absorción, excreción.	La absorción fue rápida, alcanzando los niveles máximos entre 15 minutos y 3 horas posteriores a la dosificación. Más del 95% de la dosis fue excretada por orina.	Eckert, 1989***
Humanos, ratas, hámsters, perros. Dosis: diferentes dosis de acetoacetamida.	Metabolismo de acetoacetamida.	Se encontraron 5 metabolitos: ácido oxámico, amida del ácido málico, beta-hidroxitiramida, eritro- y treo-2,3-dihidroxitiramida	Volz, 1981*
Ratas hembra. Perros. Dosis. 10 y 15g de acetoacetamida/kg pc.	LD <sub>50</sub>	La dosis letal media para ratas hembra fue mayor de 15g/kg pc. No se observaron efectos adversos en dosis de 5g/kg pc.	Volz, 1981*
Ratas hembra y macho. Dosis: 0 y 5g de acetoacetamida/kg pc. Durante 29 días.	Toxicidad de acetoacetamida.	Se observó un deterioro en la ganancia de peso corporal del 31% y del 26% en machos y hembras tratados con 5% de acetoacetamida en la dieta, respectivamente. Se cuantificó un ligero aumento de leucocitos en los animales tratados	Meyer, 1988***.

		con acetoacetamida.	
Ratas hembra y ratas macho. Dosis. 0, 1, 2, 10 y 50g de acetoacetamida/kg pc. Vía de administración: oral. Durante 29 días.	Exámenes sanguíneos, peso de algunos órganos, exámenes de orina, ganancia en peso.	Se observó una ligera reducción en la ganancia en peso a la dosis más alta. El recuento de hemoglobina y eritrocitos estaba deprimido a las dosis de 10g. El análisis de orina no mostró efectos observables.	Meyer, 1988***
Cepas de <i>Salmonella typhimurium</i>	Estudios de mutagenicidad de la β-hidroxibutiramida.	No se mostraron efectos de mutagenicidad.	
Ratas macho y hembra. Dosis: 10mg de N-sulfonato de acetoacetamida/kg pc. Vía de administración: oral e intravenosa.	absorción, distribución, metabolismo y excreción	Los niveles más altos se produjeron a las dos horas para la administración por vía oral (1.33mg equiv/mL). La eliminación fue bifásica, con una vida media de 1-5 horas. La excreción fecal fue del 55% y del 69% para la vía oral e intravenosa, respectivamente. Los estudios de distribución mostraron niveles más altos en los riñones, vejiga y en el músculo liso. Después de 24 horas de la dosificación se encontraron niveles menores a 0.1g equiv./g en los órganos mencionados.	Groos, 1988***
Hombres. Dosis: 50-250 mg de N-sulfonato de acetoacetamida/kg pc. Vía de administración: oral.	Efectos diuréticos.	No se observaron efectos diuréticos.	Scholtholt, 1984**
Seis hombres. Dosis: 50mg de N-sulfonato de acetoacetamida/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios hematológicos, presión arterial, frecuencia cardíaca.	No se observaron efectos adversos a las dosis estudiadas.	Rosenkrants, 1988***

\*JECFA, 1981. \*\*JECFA, 1983. \*\*\*JECFA, 1985.

Tabla 4.- Estudios de toxicidad para la estevia llevados a cabo por el Comité de Expertos de la FAO/OMS.

Condiciones del estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Ratas macho y ratas hembra. Dosis: 125mg de estevia/kg pc. Vía de administración: oral.	Absorción, distribución y excreción	Se encontró una dosis máxima de 4.8mg de estevia/mL sangre a las 4 horas de la dosificación. A las 24 horas, los niveles de estevia en sangre fueron muy bajos. El 68 % de la dosis se eliminó por heces, el 24% en el aire expirado y el 2.3% en la orina. La estevia es absorbida de manera muy lenta.	Nakayama, 1996.
Ratas macho. Dosis. 4, 8, 12 y 14mg estevia/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Absorción, distribución y excreción	La conc. más alta se observó a los 10 y 120 min., en el hígado fue de 45 y 5%, y en el intestino delgado de 18 y 66%, respectivamente. Se excretó el 35% de la dosis en heces, el 35% en orina en	Melis, 1992.

		un período de 24 horas.	
Ratas. Dosis: 125mg esteviósidos/kg pc. Vía de administración: oral.	Biotransformación	Se reveló que el esteviósido es descompuesto por la flora cecal en esteviol y azúcares. Después de 4 horas se detectaron en el intestino delgado esteviósido, esteviolbiósido y esteviol en concentraciones de 7.6, 8 y 7.5% de la dosis inicial, respectivamente. En el ciego, éstas moléculas representaron el 39, 17 y 5.1%. El esteviol fue el principal metabolito eliminado por heces.	Nakayama, 1996.
Incubación de 2.5mg de esteviósido/mL bajo condiciones anaeróbicas en suspensiones de ciego de rata.	Biotransformación	La dosis de esteviósidos se degradó por completo a esteviol. Los autores concluyeron que lo mismo sucede en el organismo humano.	Wingard, 1990.
Activación metabólica de esteviol en <i>Salmonella typhimurium</i> . Análisis con espectrofotometría de masas, cromatografía de gases.	Biotransformación del esteviol.	El esteviol fue el compuesto predominante, sin embargo se encontraron 9 metabolitos siendo el alfa-hidroxiesteviol el 67% del total de los metabolitos.	Compadre, 1998.
Ratas macho. Dosis. 1 mg esteviósido/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Biotransformación	Se demostró que el esteviósido se degrada <i>in vivo</i> y que el esteviol es el principal metabolito (47%). Es excretado a través de la bilis.	Ishii, 1995.
Ratones hembra. Esteviósido.	Efectos sobre las enzimas.	La ingesta de esteviósidos no indujo actividad sobre la enzima glutatión transferasa en el hígado o en la mucosa intestinal.	Pezzuto, 1996.
Ratas. Dosis: 1mmol esteviósido/L, equivalente a 8mg/mL.	Efectos sobre las enzimas.	Se inhibió la actividad de la fosforilación oxidativa y la actividad de la ATPasa (inhibición del 50%), de la succinato oxidasa (8%) y de la succinato deshidrogenasa (10%).	Kelmer-Bracht, 1995.
Estudio aislado, hemoglobina en hígado de ratas. Dosis: 2mg esteviósidos/mL.	Efectos sobre cetogénesis.	Se demostró que a dosis de 2mg de esteviósidos/mL se inhibe la cetogénesis en un 66%.	Constantin, 1995.
Ratas machos. Dosis: 650mg esteviósidos/kg pc. Vía de administración: oral.	Efectos sobre gluconeogénesis.	Se observó un aumentó en la deposición de glucógeno hepático. Los autores concluyeron que los esteviósidos estimulan la síntesis de glucógeno hepático bajo condiciones de gluconeogénesis.	Hübler, 1994.
Hígado de ratas.	Efecto en el metabolismo de D-glucosa y D-fructosa.	Los esteviósidos no tuvieron ningún efecto en el metabolismo de ninguno de los dos monosacáridos.	Ishii, 1987.
Túbulos corticales de rata. Dosis: 2.4mg esteviósidos/ mL.	Efectos sobre gluconeogénesis y captación de oxígeno.	No se observó ningún efecto adverso.	Yamamoto, 1985*
Ratas. Dosis: 100, 200 y 300mg esteviósidos/kg pc. Vía de administración:	Efectos sobre la glucosa plasmática.	Las dosis elevaron la concentración de glucosa en sangre en un 110, 140 y 130% del valor del control, respectivamente. La tasa de rotación de la glucosa no se vio alterada. Los niveles de insulina no se modificaron.	Suanarunsawat, 1997*

intravenosa.		Los autores concluyeron que el efecto hiperglucémico se debió a un efecto sobre el transporte de la glucosa a través de la célula.	
Yeyuno de hámster. Dosis: 0.8 y 4mg/mL.	Absorción de glucosa.	La absorción de glucosa no era inhibida por los esteviósidos.	Toskulkao, 1995*
Perros. Dosis: 26 mg esteviósidos/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Toxicidad aguda	No se observaron cambios significativos en parámetros de sangre entera, plasma, función renal. Los autores concluyeron que este edulcorante es carente de efectos como hipoxemia, lo que podría contribuir a la nefrotoxicidad.	Krejci, 1992*
Ratas machos y hembras. Dosis: 160, 310, 630, 1300 y 2500mg esteviósidos/kg pc-día. Trece semanas.	Toxicidad a corto plazo.	Los autores concluyeron que una concentración de 2500mg/kg pc-día es la dosis máxima tolerable para un estudio de dos años en ratas.	Aze, 1992*
45 ratas hembras y 45 ratas machos. Dosis: 100, 300 y 600 mg/kg pc -día. Dos años de duración.	Toxicidad a largo plazo.	No se observaron efectos significativos en la ganancia de peso, tampoco en las pruebas hematológicas, urinarias ni en valores clínicos. Así, se estimó que la ingesta diaria admisible para humanos es de 7.9mg esteviósidos/kg pc-día.	Xili, 1992*
Hámsteres machos y hembras. Dosis: 0, 500, 1000, 2000mg esteviósidos/kg pc-día. Durante seis semanas. Vía de administración: oral.	Estudios de genotoxicidad: toxicidad para la reproducción.	No se encontraron anomalías en el crecimiento o fertilidad en ambos sexos. El tiempo de gestación, número de fetos y el número de crías no se mostró afectado.	Yodyingyuad, 1991*
Ratas. Dosis: 0, 150, 750 y 3000mg esteviósido/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de genotoxicidad: toxicidad para la reproducción.	No se observó ningún efecto adverso sobre la fertilidad o sobre el desarrollo de los fetos.	Mori, 1991*
Ratas hembras preñadas. Dosis: 0, 250, 500 y 1000mg esteviósidos/kg peso corporal. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad en el desarrollo.	Los puntos examinados fueron peso corporal fetal, número de fetos vivos, distribución por sexos, fetos muertos, incidencia de malformaciones. Al terminar el estudio se concluyó que los esteviósidos no tienen ningún efecto teratogénico.	Usami, 1995*.
Ratas hembras y machos. Dosis: 3mg/kg pc. Vía de administración: oral e intracecal.	Absorción, distribución y excreción: esteviol	Al finalizar el estudio, se concluyó que el esteviol es completamente absorbido en el intestino grueso.	Wingard, 1990*
Ratones hembra. Dosis de esteviol.	Efectos sobre enzimas y otros parámetros bioquímicos: esteviol	La dosis administrada no indujo actividad de la glutatión transferasa en el hígado o en la mucosa intestinal.	Pezzuto, 1996*
Ratones hembra. Dosis: 0.16mg esteviol/mL.	Efectos sobre enzimas y otros parámetros bioquímicos: esteviol	Se inhibió la fosforilación oxidativa y la actividad ATPasa (92%), también la actividad de la NADH oxidasa (45%), succinato oxidada (42%), succinato deshidrogenasa (46%) y la L-glutamato-deshidrogenasa (46%). Se concluyó que el esteviol actúa como desacopladores de la fosforilación oxidativa.	Kelmer-Bracht 1995*

Túbulos corticales renales de ratas. Dosis: 96mg/mL.	Efectos sobre enzimas y otros parámetros bioquímicos: esteviol	El esteviol disminuyó la producción de glucosa y la captación de oxígeno. Los autores concluyeron que este efecto se debe a una acción inhibitoria sobre la fosforilación oxidativa y el transporte de electrones en las mitocondrias.	Yamamoto, 1995*
Ratones hembras y ratones machos.	Toxicidad aguda: esteviol. DL <sub>50</sub> .	Se determinó una DL <sub>50</sub> mayor a 15g/kg pc por vía oral. El examen histopatológico reveló severos daños en riñones, un aumento de nitrógeno en la sangre. La causa de la muerte; insuficiencia renal aguda.	Toskulkao, 1997*
Ratas machos. Dosis: 5000mg esteviósidos/kg pc-día. Duración: 32 semanas.	Carcinogénesis en vejiga.	El tratamiento con 5000mg esteviósidos/kg pc-día no afectó en la incidencia de hiperplasia nodular o lesiones neoplásicas en vejiga. Los investigadores concluyeron que los esteviósidos no promueven la carcinogénesis de vejiga.	Hagiwara, 1994*
Estudios <i>in vitro</i> . Cepa <i>S. typhimurium</i> TM677 con activación metabólica.	Genotoxicidad del esteviol.	El principal metabolito <i>in vitro</i> es el alfa-hidroxiesteviol, el cual estuvo inactivo en dosis de hasta 7.5mg esteviol/mL. Se concluyó que no hay evidencias de mutagenicidad.	Compadre, 1988*

\*JECFA, 1999.

Tabla 5.- Estudios de evaluación tóxica de la sucralosa

Condiciones del estudio	Parámetros Evaluados	Resultados	Autor
Humanos. Dosis: 1mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción.	La mayor ruta de eliminación fueron las heces fecales (78.3%), seguidos por la orina (14.5%). Dosis mayores de sucralosa no sugieren promedios mayores en la eliminación de la sucralosa por orina, pero si se prevé una reducción en la absorción de sucralosa.	Roberts et al., 2000.
Ratas. Dosis: 2-20mg sucralosa/kg pc. Vía de administración. Intravenosa.	Excreción y absorción.	Aproximadamente el 80% de la dosis ingerida es excretada por orina, cerca del 16% por heces.	Sims et al., 2000
Ratas. Dosis: 10-1000 mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción.	Se observó que la sucralosa es pobremente absorbida en el intestino delgado, además es totalmente excretada en heces sin sufrir alteraciones 24 horas después de la dosificación.	Sims et al., 2000
Conejos hembra. Dosis: 1g sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción.	El 22% fue excretado por orina mientras que por heces se eliminó cerca del 55%.	John et al., 2000.
Conejos hembra preñadas. Dosis: 1g	Excreción y absorción.	Se eliminó el 65% por heces, del total de la dosis administrada. El 22% fue	John et al., 2000.

sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.		excretado por orina.	
Conejos. Dosis: 20 mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: intravenosa.	Excreción y absorción.	Por esta vía de administración, la eliminación es preferentemente por orina (se elimina el 80% de la dosis en 5 días). Por heces sólo se elimina 17%).	John et al., 2000.
Conejos. Dosis: 1000, 1500 y 3000 mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción.	Por orina se elimina el 23%, 15% y 16% de las dosis, respectivamente. Esto indica que cerca del 20-30% de la dosis es absorbida.	John et al., 2000.
Perros. Dosis: 1-1.5g sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción. Metabolitos.	La sucralosa es rápidamente absorbida y excretada en su forma inactiva por vía orina. Sin embargo se observó la presencia de ácido glucurónico en bajas concentraciones (del 2-8% de la dosis total).	Wood et al., 2000
Ratas preñadas. Dosis: 0.5, 1 y 2g sucralosa/kg pc-día.	Estudios Teratogénicos	No se detectaron alteraciones en el desarrollo fetal, confirmándolo en la necropsia.	Kille et. al., 2000.
Conejos hembras preñadas. Dosis: 0.5, 1 y 2g sucralosa/kg pc-día.	Estudios Teratogénicos	No se observaron efectos adversos en el feto.	Kille et. al., 2000.
Ratas. Mezclas equimolares de productos de degradación de la sucralosa.	Estudios carcinogénicos.	Se demostró que no hay evidencia de progresión o lesión de neoplasia, cuando es comparado con los grupos no tratados.	Grice & Godsmith, 2000.
Perros. Mezclas equimolares de productos de degradación de la sucralosa.	Estudios carcinogénicos.	El número de linfocitos apareados no sufrieron disminución en los perros tratados.	Grice & Godsmith, 2000.
Ratones. Dosis: 1 y 3% de sucralosa en la dieta. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 2 años.	Estudios carcinogénicos.	Se detectó un pequeño riesgo a desarrollar nefropatía crónica, esto sólo en las ratones hembras. Sin embargo, no se detectaron indicios de patologías renales.	Lord & Newberne, 1990.
Ratas hembras y machos, monos hembras y machos. Dosis. 1000mg de sucralosa y de 6-cloro-6-deoxiglucosa (6-CG)/ Kg pc-día. Vía de administración: oral. Durante 28 días.	Estudios de neurotoxicidad.	Se realizó un análisis de microscopía electrónica de la estructura histopatológica y de los posibles efectos en el Sistema Nervioso Central (SNC). El estudio reveló que no existen evidencias de alteraciones en el SNC debido a la sucralosa o al 6-CG.	Finn & Lord, 2000.
Ratas. Dosis: 20mg sucralosa/ Kg pc-día. Vía de administración: intravenosa.	Excreción y absorción.	Aproximadamente el 80% de la dosis es excretada por orina en los primeros 5 días. Del 10-20% es eliminado a través de la bilis por medio de las heces.	Hawkins et al. , 1987*
Ratas. Dosis: 100mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Excreción y absorción.	Cerca del 60-75% de la dosis es excretada vía heces. Del 20-25% se elimina por orina durante los primeros	Hawkins et al. , 1987*

		5 días posterior a la ingestión.	
Ratas. Dosis: 20mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: intravenosa.	Excreción, absorción y distribución.	Después de 5 horas de la inyección, se detectó la presencia de sucralosa en hígado, sangre, riñón y en el intestino delgado.	Daniel, 1987*
Ratas preñadas. Dosis: 100mg sucralosa/kg pc-día.	Estudios Teratogénicos.	No se encontraron evidencias de efectos Teratogénicos.	Daniel, 1987*
Ratones machos. Dosis: 20mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: intravenosa.	Biotransformación	Se encontró que cerca del 95% de la sucralosa eliminada por heces es excretada sin cambios, mientras que para la orina el 90% no presenta alteraciones. Se encontraron dos componentes principales, 4 -CG y 1,6 - DCF.	Hawkins et al. , 1987*
Ratones machos. Dosis: 1000, 1500 y 3000mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Biotransformación	Del 92-99% de la dosis excretada en heces no sufre alteraciones. Cerca del 90 % de la sucralosa eliminada por orina no presenta cambios. Se encontraron trazas de 4-CG en las dosis de 1500 y 3000mg, mientras que el 1,6-DCF sólo se encontró en la dosis de 3000 mg.	Hawkins et al. , 1987*
Humanos. Dosis: 1mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Biotransformación	Se encontró que menos del 2.5% de la dosis de sucralosa ingerida es transformada a otros metabolitos.	Roberts et al. , 1986*
Humanos. Dosis: 10mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: oral.	Biotransformación	De la sucralosa excretada (92%) se observó que menos del 2% es convertida a otros metabolitos.	Roberts et al. , 1988*
Sucralosa como sustrato para alfa-galactosidasa, glicosidasa, beta-glicosidasa, beta-galactosidasa, invertasa.	Estudios especiales sobre enzimas	La sucralosa no es hidrolizada por ninguna de las enzimas en estudio.	Rodgers et al. , 1986*
Ratas. Dosis: 100, 200, 500 y 1000mg sucralosa/kg pc. Vía de administración: intraperitoneal.	Influencia sobre el metabolismo de hidratos de carbono.	Los autores concluyeron que a las dosis administradas, la sucralosa no ejerce ningún efecto sobre el metabolismo de carbohidratos.	Das et. al., 1989*
Ratas machos. Dosis: 1, 10, 30mg 6-CG/ kg pc-día.	Efectos en la reproducción.	Se determinó que el 6-CG disminuye la cantidad de espermatozoides en ratones a una concentración de 24mg/kg pc.	Ford, 1986*
Grupos de 52 ratas machos y 52 ratas hembras. Dosis: 0, 300, 1000 y 3000mg sucralosa/kg pc-día. Durante 104 semanas.	Estudios especiales sobre la carcinogenicidad	Se observó una menor ganancia en peso en los ratones machos y hembras que recibieron dosis de 3000mg/kg pc-día. El número de eritrocitos fue ligeramente menos en los machos que recibieron dosis de 3000mg/kg pc-día. No hubo un aumento en la incidencia de cualquier tipo de tumor en ratones que consumieron sucralosa.	Amyes et. al., 1986*
Ratas. Dosis: 1000, 2000, 4000 y 8000 mg sucralosa/kg pc-día. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 59	Estudio especial sobre la utilización de minerales	Se monitoreó la excreción de minerales así como los niveles de corticosterona en la orina. A la octava semana, se observó una menor ganancia en peso de las hembras	Eiseman et. al., 1985**

días.		tratadas con dosis del 8%. Los niveles de calcio, magnesio, cobre no se vieron afectados en el riñón.	
Monos. Dosis de 6-CG. Vía de administración: Oral.	Estudios de neurotoxicidad.	En uno de los monos tratados con 6-CG se observaron temblores y una convulsión. Se concluyó que el metabolito 6-CG puede causar neurotoxicidad.	Hepworth y Finn, 1981**

\*JECFA, 1988.

\*\*JECFA, 1989.

Tabla 6.- Estudios de toxicidad de neotame, llevados a cabo y/o evaluados por JECFA.

Condiciones del estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 15mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Distribución y absorción.	Las concentraciones de neotame en plasma fueron máximas una hora posterior a la dosificación. La mayor parte del neotame se excretó 24 horas. Se encontraron pequeñas cantidades de neotame en médula ósea, hígado y riñones. No hubo evidencia de acumulación en ningún tejido.	Hawkins et al., 1995 <sup>a*</sup>
Ratas machos. Dosis: 15mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Distribución y absorción.	A los 30 y 120 minutos la mayoría del neotame se encontró en el estómago, tracto gastrointestinal, hígado, riñones y vejiga. Después de 24 horas, cantidades muy pequeñas de neotame se encontraron aún en el organismo.	Hawkins et al., 1995 <sup>a*</sup>
Ratas hembras preñadas y no preñadas. Dosis: 15mg/ kg pc. Vía de administración: oral.	Distribución, absorción y eliminación.	La distribución del neotame fue similar en ratas preñadas y no preñadas. Se encontraron niveles bajos del edulcorante en la placenta. Nunca se detectó neotame en el feto. La mayoría del neotame se encontró en el estómago, tracto gastrointestinal, hígado, riñones y vejiga. Después de 24 horas se encontraron trazas de neotame en el organismo.	Hawkins et al., 1996 <sup>a*</sup>
Ratas machos. Dosis: 25mg neotame/ kg pc. Vía de administración: oral.	Metabolismo del neotame.	Los niveles máximos de neotame en plasma se alcanzaron después de 30 y 60 minutos de la dosificación en hembras y machos, respectivamente. El principal metabolito identificado en bilis, orina y heces fue el neotame desesterificado. La eliminación del neotame fue del 5.9% en bilis, 85% en heces y del 0.01-0.03% en CO <sub>2</sub> .	Hawkins et al., 1995 <sup>a*</sup>
Ratas hembras y ratas machos. Dosis: 15mg neotame/kg pc. Vía de	Metabolismo del neotame.	Después de 48 horas de la administración oral, más del 90% de la dosis ingerida se recuperó en orina	Kirkpatrick et al., 1997*

administración: oral e intravenosa.		(8-10%) y heces (84-87%). Por vía intravenosa se eliminó el 35 y 59% en orina y heces, respectivamente. El principal metabolito identificado en orina fue el N-(3,3-dimetilbutil)-L-ácido aspártico. El neotame desesterificado fue el principal metabolito en heces (70-80%) mientras que el N-(3,3-dimetilbutil)-L-ácido aspártico representó menos del 2.5%.	
30 ratas hembras y 30 ratas machos. Dosis: 15 o 120mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral e intravenosa.	Perfil fármaco-cinético.	Los niveles máximos de neotame en plasma se alcanzaron 30 min después de la dosificación por vía oral. El metabolito predominante en plasma fue el neotame desesterificado (80-90%). La concentración máxima de neotame en plasma fue mayor en hombres que en mujeres.	Hawkins et al., 1997*
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 0-1000mg neotame y neotame desesterificado/kg pc. Duración del estudio: 2 años. Vía de administración: oral.	Estudios de carcinogenicidad y toxicidad.	La concentración de neotame en plasma estuvo por debajo del límite cuantificable, 10ng/mL. No hubo evidencias de acumulación de neotame o neotame desesterificado. No se observaron efectos de carcinogenicidad.	Burnett & Bartekian, 1998; Turk y Bartekian, 1998a*
Ratas hembras y ratas machos. Dosis: 15mg neotame desesterificado/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo y farmaco-cinética.	Se recuperó el 100% del neotame desesterificado en las primeras 48 horas. Cerca del 1% se elimina por orina mientras que el 99% se excreta por heces. La excreción urinaria total en hembras fue en las primeras 12 horas, mientras que en los machos fue en las 24 horas después de la dosificación. Los niveles máximos de neotame desesterificado en plasma se alcanzaron 30 y 60 minutos después de la ingesta en hembras (0.051mg/mL) y machos (0.066mg/mL), respectivamente. El neotame desesterificado es excretado sin cambios.	Hawkins et al., 1996b*
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 15mg neotame/kg oc. Vía de administración: oral.	Presencia de posibles metabolitos (3,3-dimetil-butanoil-L-carnitina).	El metabolito 3,3-dimetil-butanoil-L-carnitina fue detectado en orina de hembras a través de cromatografía en capa fina. Dicho metabolito no fue detectado en orina de machos.	Kirkpatrick et al., 1998a*
Conejos hembras preñadas. Dosis: 0-500mg neotame o neotame desesterificado/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios teratológicos.	No hubo evidencia de acumulación de neotame o neotame desesterificado en plasma ni en el feto.	Willoughby, 1996b*
Perros. Dosis: 0-1200mg neotame o neotame desesterificado/kg pc-día. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 1 año.	Estudios carcinogénicos.	No hubo evidencia de acumulación de neotame o neotame desesterificado en plasma ni en ningún otro órgano.	Thomford y Saunders, 1995; Thomford & Carter, 1997b*
Perros. Dosis: 15 o 120mg neotame/kg pc. Vía de	Excreción, absorción y	Aproximadamente el 95% del neotame se recuperó por orinas y	Kirkpatrick et al.,

administración: oral o intravenosa.	distribución.	heces (El 80% en las primeras 48h posteriores a la dosificación). Por vía oral, del 13-20% se elimina por orina y el resto en heces. Por vía intravenosa, cerca del 40% se excreta por orina y la diferencia por heces. El principal metabolito encontrado fue el neotame desesterificado (62-74% por vía oral y 42-43% por vía intravenosa%). Se identificaron otros dos metabolitos, N- (3,3-dimetilbutil) -L-aspártico y el ácido 3,3-dimetilbutanoico (0.4-2% y 5% respectivamente).	1997b*
Hombres sanos. Dosis: 0.10, 0.25 o 0.50mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de tolerancia al neotame y estudios fármaco-cinéticos.	La concentración máxima de neotame en plasma se alcanzó a los 30 minutos de la ingesta. El edulcorante se elimina rápidamente, con una vida media de 0.61 a 0.75h. El neotame no era detectable en orina después de 8 horas. Aproximadamente el 14% de la dosis fue recuperado como neotame esterificado en orina.	Kisicki et al., 1997*
Hombres sanos. Dosis: 0.25mg/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de tolerancia al neotame y estudios fármaco-cinéticos.	En 72 h se recuperó cerca del 98% del neotame en orina y heces. El 34.3% se recuperó en orina, mientras que el 63.7% fue en heces. El neotame es absorbido rápidamente. La vida media del neotame en el organismo es de 0.6h. Las concentraciones máximas de neotame desesterificado se alcanzaron en 1h. Se detectó el 23.8% de la dosis ingerida como neotame desesterificado. Se detectó la presencia del N- (3,3-dimetilbutil) -L-aspártico (4.9% del total de la dosis).	Holt & Kirkpatrick, 1997*
Humanos sanos. Dosis: 0.5mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Caracterización e identificación del N- (3,3-dimetilbutil) -L-aspártico	Se detectó el metabolito de interés en la orina, representando del 0.5-3.4% del total de la dosis administrada. El análisis de llevó a cabo por cromatografía.	Harry & Aikens, 1998*
Doce hombres sanos. Dosis únicas: 0.10, 0.25 o 0.50mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de fármaco-cinética.	La vida media del neotame fue de 0.75 h y del neotame desesterificado de 2.5h. Ambos fueron eliminados dentro de 24h posteriores a la ingesta.	Weston et al., 1997*
Hombres sanos. Dosis: 0.25mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de fármaco-cinética.	El tiempo de vida media fue de 0.9h. Cerca del 23% de la dosis total se excreta por orina como neotame desesterificado.	Kisicki et al., 1998a*
Ratas hembras y ratas machos. Dosis: 100, 300 o 1000mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Efectos sobre enzimas y otros parámetros bioquímicos	Se midieron las siguientes actividades enzimáticas y otros parámetros para probar el efecto de neotame en citocromo P450 e isoenzimas: concentración de proteína, concentración de citocromo P 450 y las actividades de 7-etoxiresorufina O- de-etilasa (CYP1A), hidroxilasa testosterona (CYP2B y CYP3A), hidroxilasa ácido	Hall, 1997*

		láurico (CYP2E y CYP4A) y p-nitrofenol-uridina-difosfato glucuronil-transferasa (UDPGT, una enzima de la fase II) en fracciones microsomales, junto con las concentraciones de proteínas y tiol no proteico en fracciones citosólicas. No hubo diferencias significativas entre los animales tratados y los control	
Unión del neotame y neotame desesterificado a proteínas de humanos, perros y ratas. Estudios <i>in vitro</i> .	Efectos sobre enzimas y otros parámetros bioquímicos	En ratas, la unión de neotame desesterificado a proteínas plasmáticas fue del 72-76%. En perros, la unión de neotame y neotame esterificado a proteínas del plasma fue de 74-89% y 50%, respectivamente. En humanos, la unión del neotame a proteínas plasmáticas fue del 94-98%.	Kirkpatrick et al., 1997*
Ratones hembras y ratones machos. Dosis: 10, 30, 100 y 300mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad a corto plazo.	Se realizó un examen macroscópico así como la medición del peso de todos los órganos. No hubo cambios significativos en los parámetros de patología o en el peso corporal.	Thomford, 1994**
Ratones hembras y ratones machos. Dosis: 500, 1000, 2000, 4000 y 8000mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad a corto plazo.	La ganancia corporal se redujo significativamente en los animales tratados con 8000mg/kg-pc. No hubo cambios significativos en los parámetros de patología o en el peso corporal.	Thomford, 1994**
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 0, 10, 30, 100 o 300mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad a corto plazo.	No se encontraron signos clínicos anormales o cambios en el peso corporal de los animales.	Thomford, 1994c*
Perros machos y hembras. Dosis: 0, 60, 200, 600 o 2000mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad a corto plazo.	Los parámetros monitoreados fueron signos clínicos generales, peso corporal, consumo de alimento, exámenes oftalmológicos, electrocardiograma, exámenes físicos y neurológicos. Hubo una disminución del peso corporal de los animales tratados con la dosis más alta. El recuento de eritrocitos disminuyó en los animales tratados con 2000mg neotame/kg pc-día. Un aumento en la concentración de triacilglicerolos se detectó en animales tratados con la dosis más alta. En las hembras, a la semana 2, las actividades de aspartato-aminotransferasa y alanina-aminotransferasa se redujo significativamente en la dosis de 1200/2000 mg / kg de peso corporal por día, y la alanina-aminotransferasa también se redujo significativamente en la dosis de 600 mg / kg de peso corporal por día.	Thomford y Saunders, 1995*
Setenta ratones hembras y 70 ratones machos. Dosis: 0, 50, 400, 2000 o 4000mg neotame/kg pc-	Estudios de carcinogenicidad.	Los parámetros observados incluyeron signos clínicos, exámenes físicos, peso corporal, ingesta de alimentos, pruebas hematológicas y	Thomford & Carter, 1997**

día. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 2 años.		peso de órganos. No hubo efectos relacionados con el tratamiento sobre la mortalidad, ni hubo signos clínicos de toxicidad durante los exámenes físicos diarios y periódicos. No hubo cambios en los parámetros hematológicos. No se encontraron evidencias de neoplasia	
Ratas hembras y ratas machos. Dosis: 0, 50, 500 o 1000mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 2 años.	Estudios de carcinogenicidad.	Los parámetros evaluados fueron exámenes físicos, peso corporal, consumo de alimento y agua, eficiencia de conversión de alimento, patología clínica, peso de los órganos. No hubo efectos en el comportamiento o la eficiencia de conversión de alimentos. Se detectó una ligera disminución del peso corporal en machos tratados con dosis superiores a 500mg neotame/kg pc-día. No hubo cambios en los parámetros hematológicos relacionados con el tratamiento. No hubo incidencias de neoplasias relacionadas con el tratamiento. No hubo evidencias de carcinogenicidad o de toxicidad en órganos diana.	Mitchell y Brown, 1997b*
Ratas. Dosis: 0, 10, 30, 100, 300 o 1000mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de toxicidad para la reproducción.	No hubo efectos relacionados con el tratamiento inherente al tamaño de la camada, supervivencia, tasa de gestación, proporción de sexos. No se encontraron evidencias adversas sobre la capacidad reproductora.	Willoughby, 1996a*
Conejos. Dosis: 0, 30, 100, 300 o 1000mg neotame/kg pc-día.	Toxicidad materna.	No se encontraron signos de toxicidad materna inclusive a la dosis más alta.	Willoughby, 1996b*
Perros. Dosis de neotame. Vía de administración: intraduodenal.	Estudios especiales: Cardiovasculares, parámetros respiratorios y renales	No hubo efectos adversos observados.	Algate, 1997*
Ratas. Dosis: 5-15mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Efectos sobre la motilidad gastrointestinal	El neotame no afectó la motilidad intestinal a cualquiera de las dosis estudiadas.	Atterson, 1997a*
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 20, 60 o 200mg neotame/kg pc-día; 60, 200 o 600mg neotame desesterificado/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Efectos sobre el sistema nervioso autónomo	Se encontraron evidencias para demostrar que ni el neotame ni el neotame desesterificado afectan las respuestas autónomas del SN. Tampoco presentan efectos espasmogénicos.	Atterson, 1997c*
Humanos. Dosis: 0.1, 0.25 o 0.5mg neotame/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de tolerancia a dosis únicas.	No hubo cambios relacionados con el tratamiento en cuanto a pulso arterial, presión arterial, cambios en la hematología, parámetros químicos de orina.	Kisicki et al., 1997*
Hombres y mujeres. Dosis: 0 y 0.5mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de tolerancia a dosis repetidas.	El síntoma más común fue dolor de cabeza, sin embargo no fue significativo. Se detectó diarrea en los grupos control y a la dosis de 0.5mg. Se monitorearon parámetros clínicos, hematológicos, exámenes de orina. No hubo diferencia	Kisicki et al., 1998b*

		significativa entre los grupos control y los grupos tratados.	
Humanos con diabetes mellitus. Dosis: 0, 0.5 o 1.5mg neotame/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de tolerancia a dosis repetidas.	Se realizaron exámenes físicos, examen de la vista, concentración de glucosa en plasma, insulina. El neotame no afectó las concentraciones de glucosa en plasma ni las de insulina. No hubo diferencias relacionadas con la presión arterial, peso corporal, frecuencia respiratoria, parámetros hematológicos, análisis de orina. El neotame fue tolerado por el grupo tratado.	Morrison et al., 1998*

\*WHO, 2004.

Tabla 7.- Resumen de algunos estudios realizados por la JECFA para evaluar la posible toxicidad de la sacarina.

Condiciones del estudio	Parámetro(s) evaluado(s)	Resultados	Autor
Ratas. Dosis: 50mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Distribución y excreción.	Se evaluó la concentración del edulcorante en diversos tejidos y órganos a diferentes tiempos (1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 h posteriores a la dosificación). Se encontraron pequeñas cantidades en cerebro y bazo. En el riñón, hígado y vejiga había concentraciones más elevadas. Se encontró que pequeñas cantidades eran retenidas en la vejiga.	Lethco y Wallace, 1975.
Ratas. Dosis: 1mg/kg pc. Vía de administración: oral.	Distribución y excreción.	Se encontró acumulación de sacarina en algunos tejidos, especialmente en la vejiga. Después de tres días de la última dosificación, no se encontró ratos de sacarina en la vejiga.	Matthews et al., 1973
Ratas preñadas, monas hembras preñadas. Dosis de sacarina.	Estudios en especies preñadas.	Se encontró que la sacarina atraviesa la placenta de ratas y monas en una medida limitada, además también se ha encontrado sacarina en leche de cabras.	West, 1979;Ball et al., 1977
Ratas. Dosis: 1-10% de sacarina en la dieta. Vía de administración: oral.	Distribución y excreción. Estudios de farmacocinética.	Se encontraron concentraciones tisulares de sacarina en el riñón y la vejiga que fueron mayores que las encontradas en plasma, hígado, pulmones, bazo. La concentración de sacarina en tejidos y plasma fue mayor para hembras que para machos.	Sweatman y Renwick, 1980.
Humanos. Dosis: 0-4g sacarina al día. Vía de	Efectos secundarios	No se observaron efectos sobre la utilización de proteínas, sin embargo las dosis de 5g sacarina/día	Sweatman y Renwick, 1980.

administración: oral.		disminuyen la absorción de albúmina	
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 40mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo.	Más del 96% de la dosis administrada fue recuperada en la orina en 96h posteriores a la dosificación.	Byard y Golberg, 1973.
Ratas machos y ratas hembras. Dosis: 10 o 20mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo.	Se recuperó del 96-99% de la sacarina administrada. En orina se excretó cerca del 60-70% de la sacarina suministrada. El resto fue recuperada en heces. Los autores demostraron la presencia de dos metabolitos: ácido o-sulfamoilbenzoico y el carboxibenceno sulfonato de amonio.	Kennedy et. al., 1972.
Ratas. Dosis: 1-10mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo.	Cerca del 56-87% de la dosis fue recuperada en orina, mientras que del 10-40% en heces. El 99% de la sacarina en orina se mantuvo sin cambios, el 1% fue identificado como ácido o-sulfamoilbenzoico.	Lethco y Wallace, 1975.
Conejos albinos. Dosis: 20mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo.	No se detectó la presencia de metabolitos en la orina de conejos. Cerca del 72% de la dosis fue eliminada por orina y el 15% en heces en las primeras 24 horas. En las 48h posteriores a la dosificación se recuperó el 96% de la sacarina suministrada.	Ball et al., 1974
Monos. Dosis: 1-10 mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo.	Durante las 96 horas posteriores a la dosificación se recuperó el 98% del edulcorante en orina. Se encontraron dos productos de hidrólisis: ácido o-sulfamoilbenzoico y el carboxibenceno sulfonato de amonio.	Pitkin et al., 1971.
Hombres. Dosis: 500 mg sacarina. Vía de administración: oral.	Estudios de metabolismo. Excreción.	Más del 98% de la dosis administrada se recuperó en las primeras 48 h posteriores a la administración (92.3% se eliminó por orina, el 5.8% en heces.) No se encontró ningún metabolito.	Byard et al., 1974
Ratones. Dosis: 10-20 mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios de carcinogenicidad.	No se encontraron diferencias significativas en incidencias de papilomas de piel entre el grupo control y los animales tratados.	Salaman y Roe, 1976.
Ratones hembras y ratones machos. Dosis: 5% de sacarina en la dieta. Duración del estudio: 18 meses.	Estudios de carcinogenicidad.	No hubo diferencias significativas entre el grupo control y los animales tratados en cuanto a supervivencia o ganancia en peso. No hubo evidencias de neoplasia en los animales tratados con sacarina.	Roe et al., 1970
Ratones hembras y ratones machos. Dosis: 0, 1 o 5% de sacarina en la dieta. Vía de administración: oral. Duración de estudio: 24	Estudios de carcinogenicidad.	No se encontró evidencias de incidencias de tumores en vejiga en los animales tratados con sacarina.	Homburger, 1978.

meses.			
Ratones machos y ratones hembras. Dosis: 0, 0.2, 1 o 5% de sacarina en la dieta. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 21 meses.	Estudios de carcinogenicidad.	No se informaron efectos adversos relacionados con el tratamiento.	Miyaji, 1979.
Hámsters hembras y hámsters machos. Dosis: 0, 0.156, 0.312, 0.625 o 1.25% de sacarina en la dieta. Vía de administración: oral.	Estudios de carcinogenicidad.	El tiempo media de supervivencia de los animales fue de 50-60 semanas. No se encontraron efectos de neoplasias relacionados con el tratamiento.	Althoff et al., 1975.
Ratas machos. Dosis: 2.5g sacarina/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de carcinogenicidad.	Se realizaron exámenes hematológicos, bioquímicos y patológicos; no se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en el grupo control y los tratados. No se encontraron anomalías en las vejigas.	Furuya et al., 1975
Ratones hembras preñadas. Dosis: 40-160mg sacarina/kg pc. Vía de administración: oral.	Estudios sobre la reproducción.	No se encontraron efectos adversos sobre el crecimiento de los fetos, el crecimiento de las crías, número de crías.	Lehmann, 1979.
Seis generaciones de ratas. Dosis: 0, 0.2 o 0.5% de sacarina en la dieta. Vía de administración: oral.	Estudios sobre la reproducción.	Se evaluaron índice de fertilidad, índice de viabilidad, índice de lactancia, peso corporal, número de machos infértiles. No se observaron cambios en ninguno de los parámetros anteriores en cualquiera de las seis generaciones.	Kroes et al., 1977.
Ratas hembras y ratas machos. Dosis: 0.5% de sacarina/kg pc-día.	Estudios a corto plazo.	Aunque la inclusión de la sacarina deprimió la ganancia en peso corporal debido a la disminución del consumo de alimento, no se observaron otros efectos adversos.	Taylor et al., 1968
Perros hembras y perros machos. Dosis 150mg sacarina/kg pc-día. Vía de administración: oral. Duración del estudio: 18 meses.	Estudios sobre la reproducción y otras funciones corporales	No se encontraron efectos adversos sobre la reproducción o sobre otras funciones corporales.	Bonjean, 1972.
Ratas preñadas. Dosis: 0 o 6000mg sacarina/kg pc-día. Vía de administración: oral.	Estudios de teratogenicidad.	El número de crías por camada, la mortalidad fetal y el peso fetal no se vieron afectados por el tratamiento.	Cepo, 1977.
Conejos hembras preñadas. Dosis: 0 o 600mg sacarina/kg pc-día.	Estudios de teratogenicidad.	El número de crías por camada, la mortalidad fetal y el peso fetal no se vieron afectados por el tratamiento.	Rama et. al., 1977.