

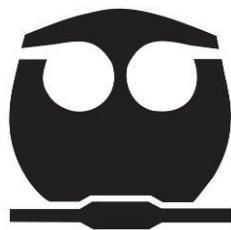
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA



EVALUACIÓN DE EDULCORANTES ARTIFICIALES
EMPLEANDO MODELOS ANIMALES

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:
ITZEL ORTA MÉNDEZ Y SÁNCHEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2016



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: Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

VOCAL: M en C. Lucía Cornejo Barrera

SECRETARIO: M en C. Landy Irene Ramírez Burgos

1er SUPLENTE: Dra. Marisela Bernal González

2do SUPLENTE: M en C. Rolando Salvador García Gómez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

- LABORATORIOS E-301, E-302, E-303, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.
- UNIDAD DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL (UNEXA), CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESORA DEL TEMA:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. Rolando Salvador García Gómez

SUSTENTANTE:

Itzel Orta Méndez y Sánchez

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento parcial de esta investigación a través del proyecto de Ciencia Básica SEP con clave 178656 y a la UNAM, a través del PAIP de la Facultad de Química (Clave 50009067) y del PAPIME-DGAPA Claves EN103704, PE101709 y PE-100514.

Al personal de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM por su apoyo en todas las fases de la investigación.

A la M en C. Isabel Gracia Mora por la asesoría brindada durante todo el proyecto y a la MVZ Lucía Macías Rosales ya que sin su apoyo y sus indicaciones sobre el manejo de animales este trabajo no hubiera sido posible.

Al personal de apoyo del Departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médica y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMYNSZ). En especial al Q. Guillermo Ordaz Nava, quien conjuntamente con la Dra. Nimbe Torres y el Dr. Armando Tovar, apoyaron en la realización de las pruebas bioquímicas y otros apoyos colegiados.

A los honorables miembros de mi jurado por sus valiosas aportaciones.

"Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o referencias a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante los recursos editoriales convencionales"

Itzel Orta Méndez y Sánchez

ÍNDICE

	Página
GLOSARIO	1
RESUMEN	7
SUMMARY	9
CAPÍTULO 1 PROBLEMÁTICA	11
1.1 Introducción	11
1.2 Hipótesis	13
1.3 Objetivos	13
1.3.1 Objetivo general	13
1.3.2 Objetivos particulares	13
CAPÍTULO 2 FUNDAMENTOS	15
2.1 Obesidad y sobrepeso	15
2.2 Edulcorantes: definición y función	17
2.2.1 Ingesta diaria admisible (IDA)	19
2.2.2 Límite máximo establecido por organismos nacionales e internacionales	20
2.3 Edulcorantes hipocalóricos o artificiales evaluados	21
2.3.1 Acesulfame de potasio	21
2.3.1.1 Historia	22
2.3.1.2 Metabolismo	23
2.3.1.3 Toxicología	23
2.3.2 Aspartame	24
2.3.2.1 Historia	25
2.3.2.2 Metabolismo	25
2.3.2.3 Toxicología	25
2.3.3 Sacarina	26
2.3.3.1 Historia	27
2.3.3.2 Metabolismo	27
2.3.3.3 Toxicología	28
2.3.4 Sucralosa	29
2.3.4.1 Historia	29
2.3.4.2 Metabolismo	30
2.3.4.3 Toxicología	31
2.3.5 <i>Stevia</i>	31
2.3.5.1 Historia	34
2.3.5.2 Metabolismo	35
2.3.5.3 Toxicología	35

	Página
2.3.6 Mezcla comercia acesulfame K:aspartame	36
2.3.6.1 Historia	38
2.3.6.2 Metabolismo	38
2.3.6.3 Toxicología	39
2.4 Estudios recientes que presentan pros y contras del uso de estos edulcorantes	39
2.5 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999	40
2.5.1 Alimento	40
2.5.2 Agua como líquido vital	41
2.5.3 Espacio mínimo requerido para roedores de laboratorio en un bioensayo	41
2.5.4 Especificaciones de las instalaciones para animales de laboratorio	44
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA	46
3.1 Desarrollo experimental	46
3.2 Condiciones experimentales	47
3.3 Aleatorización y orden de los especímenes	49
3.4 Dieta suministrada	53
3.5 Concentraciones de las bebidas utilizadas en esta investigación	55
3.6 Registro de masa corporal, cantidad de alimento ingerido y cantidad de bebida consumida	57
3.7 Análisis estadístico y justificación	58
CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1 Incremento de masa corporal	62
4.1.1 Análisis estadístico	62
4.2 Volumen de bebida consumida	65
4.2.1 Análisis estadístico	66
4.2.1.1 Análisis estadístico del consumo de bebida en roedores macho	69
4.2.1.2 Análisis estadístico del consumo de bebida en roedores hembra	72
4.3 Alimento ingerido y energía acumulada	75
4.3.1 Análisis estadístico de alimento ingerido	76
4.3.2 Análisis estadístico de energía acumulada	79

	Página
4.3.2.1 Análisis estadístico de energía acumulada en roedores macho	80
4.3.2.2 Análisis estadístico de energía acumulada en roedores hembra	81
4.4 Correlación de los incrementos acumulados	81
4.4.1 Correlación entre la ingesta de alimento y el consumo de bebida con edulcorante	82
4.4.2 Correlación entre el incremento de masa corporal y el consumo de bebida con edulcorante	83
4.5 Ingesta diaria de edulcorante, IDE	85
4.5.1 Comparación con la ingesta diaria admisible, IDA	85
4.6 Análisis de resultados y discusión	87
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	89
5.1 Conclusiones	89
5.2 Recomendaciones	90
ANEXOS	92
Anexo 1 Curva de crecimiento del modelo animal	92
Anexo 2 Certificados de salud de los especímenes	93
Anexo 3 Hoja de especificaciones de la dieta Teklad	99
Anexo 4 Identificación de valores atípicos por MAD (median absolute deviation) y verificación de la normalidad por sesgo y curtosis	100
Anexo 5 Verificación gráfica de la homocedasticidad y por el <i>test</i> de Levene de los datos de incremento de masa corporal, consumo acumulado de bebida y en machos y hembras e ingesta acumulada de alimento y en machos y hembras	111
Anexo 6 Pruebas <i>post hoc</i> - Comparaciones múltiples por el <i>test</i> de Duncan al 95 por ciento de confianza	116
Anexo 7 Acervo fotográfico – Rata hembra número 118 – Grupo: mezcla comercial acesulfame K:aspartame Canderel®	117
Anexo 8 Compendio de datos crudos	119
BIBLIOGRAFÍA	139

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 2.1	Poder edulcorante de edulcorantes hipocalóricos y calóricos	19
Tabla 2.2	Ingesta diaria admisible (ADI) establecida por distintos organismos – mg edulcorante/kg de masa corporal	20
Tabla 2.3	Ejemplos de límites máximos por categorías según el organismo	21
Tabla 2.4	Grupos R de los glucósidos de esteviol más comunes y su comparación de dulzor con la sacarosa	33
Tabla 2.5	Pautas para la concentración de la sal aspartame:acesulfame en varios productos	38
Tabla 2.6	Resumen de la composición bromatológica requerida para un alimento de roedores de laboratorio NOM-062-ZOO-1999	41
Tabla 2.7	Resumen del espacio mínimo para roedores de laboratorio mantenidos en jaula o caja	42
Tabla 3.1	Aleatorización de los roedores del primer bloque de 44 hembras y 44 machos	49
Tabla 3.2	Resumen de la distribución de los especímenes del primer bloque y sus tratamientos	50
Tabla 3.3	Aleatorización de los roedores del segundo bloque de 44 hembras y 44 machos	51
Tabla 3.4	Resumen de la distribución de los especímenes del segundo bloque y sus tratamientos	52
Tabla 3.5	Resumen de todos los especímenes empleados en este trabajo y sus tratamientos	52
Tabla 3.6	Porcentajes de macronutrientes en la dieta Teklad Global 18% <i>Protein Rodent Diet (Sterilizable) 2018S</i> .	54
Tabla 3.7	Concentraciones de los edulcorantes evaluados y su presentación	56
Tabla 4.1	Observaciones, promedio y desviación estándar por grupo y sexo del incremento acumulado de la masa corporal de los especímenes hasta el día 120	62
Tabla 4.2	Análisis de varianza para incremento acumulado de masa corporal - Suma de cuadrados Tipo III	63
Tabla 4.3	Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de bebida al día 120	66

		Página
Tabla 4.4	Análisis de varianza para consumo acumulado de bebida con edulcorante - Suma de cuadrados Tipo III	66
Tabla 4.5	Resultado de las comparaciones múltiples	68
Tabla 4.6	<i>Test</i> de Welch para consumo acumulado de bebida con edulcorante en ratas macho	69
Tabla 4.7	Pruebas de rangos múltiples para bebida acumulada en machos - Método: 95.0 % Howell-Games	70
Tabla 4.8	Análisis de varianza (<i>ANOVA</i>) simple para consumo acumulado de bebida con edulcorante en ratas hembra	73
Tabla 4.9	Resumen de los datos por edulcorante y de las comparaciones múltiples	73
Tabla 4.10	Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de alimento al día 120	76
Tabla 4.11	Análisis de varianza para alimento acumulado - Suma de cuadrados Tipo III	76
Tabla 4.12	Pruebas de rangos múltiples para alimento acumulado por edulcorante - Método: Duncan 95%	77
Tabla 4.13	Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de energía al día 120	79
Tabla 4.14	Análisis de varianza para energía - Suma de cuadrados Tipo III	79
Tabla 4.15	Análisis de varianza (<i>ANOVA</i>) simple por edulcorante para energía en roedores macho	80
Tabla 4.16	Pruebas de rangos múltiples por edulcorante para energía en roedores macho - Método: Duncan al 95.0%	81
Tabla 4.17	Análisis de varianza (<i>ANOVA</i>) simple por edulcorante para energía en roedores hembra	81
Tabla 4.18	Comparación entre los límites recomendados ajustados para animal de laboratorio y el promedio consumido por machos y hembras a lo largo del experimento (120 días)	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Distribución del estado nutricional de hombres y mujeres de 20 años o más, de acuerdo con la clasificación del IMC	17
Figura 2.2	Estructura química del acesulfame de potasio	22
Figura 2.3	Estructura química del aspartame	24

		Página
Figura 2.4	Estructura química de la sal de sacarina de sodio	26
Figura 2.5	Estructura química de la sucralosa	29
Figura 2.6	Aglicona: estructura química central de los glucósidos de esteviol	33
Figura 2.7	Estructura química del rebaudiósido A: glucósido de esteviol mayormente empleado en la actualidad	34
Figura 2.8	Intensidad de dulzor del acesulfame de K (Ace K), aspartame y su mezcla (50:50)	37
Figura 2.9	Esquema de la reacción de preparación de la sal de aspartame:acesulfame	37
Figura 2.10	Termostato para el control de temperatura de la sala de experimentación 516 de la UNEXA	44
Figura 2.11	Temporizador para el control de los ciclos de luz y oscuridad de la sala de experimentación 516 de la UNEXA	45
Figura 3.1	Metodología seguida durante el desarrollo experimental	46
Figura 3.2	Recepción de los roedores en sus contenedores	48
Figura 3.3	Primer pesaje de masa corporal	48
Figura 3.4	Esquema de la identificación del marcaje con muescas	48
Figura 3.5	Ejecución del marcaje con muescas por el personal especializado	48
Figura 3.6	Distribución aleatoria de las cajas en el estante número uno	53
Figura 3.7	Pesaje de alimento diario	54
Figura 3.8	Pesaje de sucralosa pura para preparar un litro de solución	55
Figura 3.9	Pesaje de la mezcla comercial acesulfame K:aspartame	55
Figura 3.10	Aforo de las soluciones	55
Figura 3.11	Metodología para preparación de la infusión de <i>stevia</i>	56
Figura 3.12	Medición de las soluciones	57
Figura 3.13	Bebedores listos para ser colocados en cada jaula	57
Figura 3.14	Pesado diario de cada espécimen	57
 ÍNDICE DE GRÁFICAS		
Gráfica 4.1	Media por mínimos cuadrados y desviación estándar del incremento acumulado de ratas hembra y macho al día 120	63
Gráfica 4.2	Incremento acumulado de masa corporal de roedores macho hasta el día 120	64

		Página
Gráfica 4.3	Incremento acumulado de masa corporal de roedores hembra hasta el día 120	65
Gráfica 4.4	Media por mínimos cuadrados y desviación estándar del consumo acumulado de bebidas en ratas hembra y macho a lo largo del periodo de experimentación (120 días)	67
Gráfica 4.5	Gráfico de interacciones del consumo de bebida acumulada al día 120 en hembras y machos	69
Gráfica 4.6	Media por mínimos cuadrados y desviación estándar de la bebida con acumulada en roedores macho hasta el día 120	71
Gráfica 4.7	Tendencia del consumo de bebida en ratas macho a lo largo de los 120 días	72
Gráfica 4.8	Media por mínimos cuadrados y desviación estándar de la bebida con acumulada en roedores hembra a lo largo del periodo de experimentación (120 días)	74
Gráfica 4.9	Tendencia del consumo de bebida en ratas hembra a lo largo de los 120 días	75
Gráfica 4.10	Media por mínimos cuadrados y desviación estándar del alimento acumulado en roedores macho y hembra a lo largo del periodo de experimentación (120 días)	77
Gráfica 4.11	Tendencia del consumo de alimento en ratas macho y hembra a lo largo de los 120 días	78
Gráfica 4.12	Gráfico de interacciones de energía acumulada al día 120 en hembras y machos	80
Gráfica 4.13	Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e ingesta de alimento acumulado en machos	82
Gráfica 4.14	Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e ingesta de alimento acumulado en hembras	83
Gráfica 4.15	Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e incremento acumulado de masa corporal en machos	84
Gráfica 4.16	Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e incremento acumulado de masa corporal en hembras	84

GLOSARIO

ACE K. Acesulfame de potasio.

Acesulfame de potasio. Edulcorante de alta intensidad que es aproximadamente 200 veces más dulce que la sacarosa o azúcar de mesa. De acuerdo con sus fabricantes no es metabolizado por el organismo, por lo que no otorga calorías. (Sinónimos: acesulfame K, ace-K).

Actividad física. Cualquier movimiento producido por los músculos que aumente el gasto de energía; incluye el trabajo, labores domésticas, actividades de recreación y de transporte (Thompson *et al.*, 2011).

Ad libitum. Expresión del latín que significa a placer. Indica que la administración depende de la voluntad del roedor. (Sinónimos: sin restricción).

Agua. Compuesto químico cuya molécula está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno (H₂O). Es la sustancia que más abunda en la Tierra y esencial para la supervivencia de todas las formas conocidas de vida.

Agua potable. Agua que no contiene contaminantes objetables, ya sean químicos o agentes infecciosos y que no causa efectos nocivos para la salud. También se denomina como agua para uso y consumo humano (DOF, 1994).

Alimento. Producto natural o elaborado susceptible a ser ingerido y digerido, cuyas características lo hacen apto y agradable al consumo, constituido por una mezcla de nutrimentos que cumple determinadas funciones en el organismo.

ANOVA (ANDEVA). Por sus siglas en inglés *Analysis of variance*. Análisis de varianza en español. Técnica que permite calcular la probabilidad de encontrar medias muestrales dispares entre sí (Prieto Valiente y Herranz Tejedor, 2010).

Aspartame. Edulcorante nutritivo formado por la unión de dos aminoácidos, es de 150 a 200 veces más dulce que la sacarosa y no tiene resabio amargo, según sus fabricantes (Sinónimo: aspartamo).

Azúcar de mesa. Edulcorante más empleado para la alimentación. Disacárido integrado por una glucosa cuyo carbono aldehídico se une al cetónico de la fructosa, estableciendo un enlace glucosídico $\beta(1,2)$ que impide que este disacárido sea reductor por carecer de grupos aldehído o cetona libres. No exhibe mutarrotación. (Sinónimos: azúcar, sacarosa, β -D-fructofuranosil- α -D-glucopiranososa) (Baduï-Dergal, 2006).

Bebida carbonatada. Son bebidas que contienen saborizantes, edulcorantes y otros ingredientes. Según el edulcorante que se utilice pueden tener cantidades

altas o bajas de calorías. El bióxido de carbono añadido a presión brinda burbujas características de la bebida que cuando se liberan, intensifican el sabor.

Bebidas *light*. Las bebidas *light* (ligero en inglés) o dietéticas contienen edulcorantes artificiales cuyo contenido energético es muy bajo. Estas bebidas sustituyen edulcorantes calóricos por hipocalóricos. Se pueden encontrar uno o sus mezclas: sacarina, sucralosa, aspartame, acesulfame de potasio, *stevia* o glucósidos de esteviol.

BPM. Acrónimo de Buenas Prácticas de Manufactura. Cantidad de un aditivo que se añade al producto, limitándose a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado, a condición de que no altere la naturaleza, sustancia o inocuidad del producto (DOF, 2012).

Caloría. Unidad de energía térmica equivalente a la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua en un grado centígrado de 14.5 a 15.5 (FAO, 2016). Equivale a 4.185 J. Unidad de medida igual a 1 kilocaloría; a veces utilizado en las etiquetas de alimentos y en otros lugares con una "c" minúscula para representar la unidad de kilocaloría (Thompson *et al.*, 2011).

Carbohidrato. Anglicismo, ver hidratos de carbono.

CDA. *Canadian Diabetes Association* (Asociación Canadiense de Diabetes).

Compuesto químico. Sustancia formada por la unión de dos o más elementos de la tabla periódica de los elementos químicos.

Concentración. Es una medida de la cantidad de sustancias disueltas contenidas por unidad de volumen en solución. Puede expresarse como partes por millón, miligramos por litro, miliequivalentes por litro.

Densidad energética. Es el número de calorías que contiene un alimento por unidad de masa. Alimentos como las grasas son especialmente altos en densidad energética.

Diabetes mellitus. Conjunto de enfermedades que se caracterizan por una insuficiente acción de la insulina endógena, lo que suele provocar hiperglucemia, alteraciones en los lípidos séricos y lesiones vasculares. Se distinguen por lo menos dos enfermedades que parecen tener una naturaleza diferente: la diabetes tipo 1 (DM1) y la diabetes tipo 2 (DM2). Esta última cuenta con más de 95% de los casos por lo que la mayor parte de las consideraciones siguientes se referirá a ella (Lifshitz, 2008).

Diabetes mellitus tipo II. Enfermedad que se desarrolla generalmente en la adultez, se caracteriza por un déficit relativo de producción de insulina y por una deficiente utilización de la glucosa.

Dieta. Mezcla de alimentos sólidos y líquidos que un individuo o grupo consume. Su composición depende de la disponibilidad de los alimentos, su costo, los hábitos alimentarios y el valor cultural de los alimentos. (FAO, 2016)

Edulcorantes. Un edulcorante es un aditivo alimentario que imita el efecto del azúcar en el sabor (Chattopadhyay et al., 2014). Según el diccionario de la lengua española el verbo edulcorar, del b. lat. *edulcorare*, der. del lat. tardío *dulcor*, -ōris 'dulzura', es "1.tr. Endulzar cualquier producto de sabor desagradable o amargo con sustancias naturales, como el azúcar, la miel, etc., o sintéticas, como la sacarina. 2. tr. Mitigar los aspectos más hirientes o desagradables de un asunto. U. t. c. prnl. 3. tr. Embellecer o mejorar falsamente algo." (RAE, 2016).

EFSA. En inglés *European Food Safety Authority*. Agencia de la Unión Europea encargada de ofrecer asesoramiento científico independiente para los tomadores de decisiones que regulan la seguridad alimentaria en Europa.

Energía. Gasto por movimiento del cuerpo y trabajo muscular, además de los niveles basales. Proviene de la oxidación de los hidratos de carbono, de las grasas y en menor proporción de las proteínas (FAO, 2016).

Enfermedad. Alteración o pérdida del estado de salud de una persona, de duración breve o prolongada que en muchos casos puede ser prevenida o evitada con buenos hábitos de alimentación, higiene y actividad física.

Epidemia. En la salud comunitaria, ocurre cuando una enfermedad afecta a un número de individuos superior al esperado en una población durante un tiempo determinado.

Estilo de vida. Conjunto de comportamientos o actividades, saludables o nocivas, que desarrollan las personas (sinónimos: hábito de vida, forma de vida).

Espécimen. Muestra, modelo, ejemplar, normalmente con las características de su especie bien definidas.

Estrés. Demanda física o psicológica que se le haga al organismo.

FAO. En inglés *Food and Agriculture Organization*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FDA. En inglés *Food and Drug Administration*. Administración de Alimentos y Fármacos. Agencia del Gobierno de Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos.

Fórmula química. Expresión que indica el número de átomos presentes en una molécula.

GRAS. En inglés *Generally Recognized as Safe*. Acrónimo de la frase generalmente reconocido como seguro.

Hidratos de carbono. Compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, presentan la fórmula general $C_x(H_2O)_n$, y tienen estructura de polihidroxialdehído o de polihidroxiacetona; además, todos los carbohidratos presentan grupos funcionales C=O o —OH. Los CHO son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, y también los más consumidos por los seres humanos, en muchos países constituyen entre 50 y 80% de la dieta poblacional (Baduí-Dergal, 2006).

Homocedasticidad. U homogeneidad de varianzas es un supuesto del modelo del análisis de varianza (ANOVA) de dos o más vías. Dónde todas las distribuciones normales deben tener igualdad de varianzas (homocedasticidad), y cuando no se cumpla, no se debería aplicar el ANOVA de dos o más vías (Sánchez-Alberca, 2014).

ID. Ingesta diaria.

IDA. Ver ingesta diaria admisible.

IDE. Ver ingesta diaria de edulcorante.

IMC. Índice de masa corporal.

INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Ingesta diaria admisible. Corresponde a la cantidad de una sustancia que pueda ser ingerida diariamente por un individuo durante toda su vida, sin que le produzca un daño a la salud (Valle-Vega y Lucas-Florentino, 2000).

Ingesta diaria de edulcorante. Cantidad ingerida de edulcorantes diariamente.

JECFA. (*Joint Expert Committee on Food Additives*) Comité científico internacional de expertos en aditivos alimentarios, administrado conjuntamente por la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Masa. Cantidad de materia de los cuerpos. La unidad de medida de la masa es el kilogramo (kg) y se mide usando una balanza. La masa (la cantidad de materia) de cada cuerpo es atraída por la fuerza de gravedad de la Tierra. Esa fuerza de atracción hace que el cuerpo (la masa) tenga un peso, que se cuantifica con una unidad diferente: el Newton (N). Un ejemplo simple: Un niño cuya masa se puede calcular en unos 36 kilogramos (medidos en la Tierra, en una balanza), pesa (en la Tierra, pero cuantificados con un dinamómetro) 352.8 Newtons (N). Si este niño estuviera en la Luna, su masa seguirá siendo la misma (la cantidad de materia que lo compone no varía, sigue siendo el mismo niño, el cual puesto en una balanza allí

en la Luna seguirá teniendo una masa de 36 kilogramos), pero como la fuerza de gravedad de la Luna es 6 veces menor que la de la Tierra, allí el niño PESARÁ 58.68 Newtons (N) (<http://www.profesorenlinea.com.mx/fisica/masaypeso.htm>)

Masa corporal. Masa de los animales modelo usados en esta investigación.

Metabolismo. Suma de todos los cambios químicos y físicos que ocurren en los tejidos del cuerpo cuando la comida se convierte de moléculas grandes a pequeñas moléculas (Thompson *et al.*, 2011).

NOEL. En inglés *No Observed Adverse Effect Level*. Consiste en la dosis más alta del agente xenobiótico donde no se observa un efecto indeseado, para la especie más sensible (Valle-Vega y Lucas-Florentino, 2000).

Nutrición. Proceso involuntario, autónomo, de la utilización de los nutrimentos en el organismo para convertirse en energía y cumplir sus funciones vitales (FAO, 2016).

Obesidad. La obesidad, incluyendo al sobrepeso como un estado premórbido, es una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo, acompañada de alteraciones metabólicas, que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud, asociada en la mayoría de los casos a patología endócrina, cardiovascular y ortopédica principalmente y relacionada a factores biológicos, socioculturales y psicológicos (DOF, 1998).

OMS. Organización Mundial de la Salud.

Pellet. *Pellets* se traduce al español como gránulos. La palabra *pellet* viene del latín *pila*. Es generalmente una masa redondeada, esférica o cilíndrica usada como alimento o medicamento. Las aves de presa regurgitan huesos y piel de los animales que consumen en forma de gránulos o *pellets*

Poder edulcorante. Valor que se obtiene al comparar los edulcorantes por su capacidad de causar dulzor en comparación de la sacarosa.

Pp. Puntos porcentuales.

Reacción química. Proceso en el que una o más sustancias se transforman en otras sustancias diferentes a los reactivos originales.

Sacarina. Edulcorante no calórico que es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa, comercialmente se encuentra en forma de sacarina de sodio o calcio.

Salud pública. Se refiere al conjunto de las medidas, públicas o privadas, para prevenir enfermedades, promover la salud y prolongar la vida de la población en su conjunto. Tienen como objetivo proporcionar las condiciones en las que la gente puede estar saludable y centrarse en poblaciones enteras, no en los pacientes o enfermedades individuales (OMS, 2015).

Secretaría de Salud. La Secretaría de Salud es la dependencia del Poder Ejecutivo de los Estados Unidos Mexicanos que se encarga primordialmente de la prevención de enfermedades y promoción de la salud de la población.

Sedentarismo. La no realización la actividad física necesaria para obtener beneficios para la salud (OMS, 2015). Estilo de vida con poca actividad física.

Sobrepeso. Acumulación moderada de exceso de grasa corporal. Estado premórbido (DOF, 1998).

SS. Ver Secretaria de Salud.

Stevia. Nombre común que ha adoptado la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Actualmente es comercializada por sus diversos glucósidos con sabor dulce, teniendo éstos como estructura central al esteviol. El rebaudiósido A es el glucósido de esteviol más purificado y empleado en la industria alimentaria.

Sucralosa. Edulcorante artificial de alta intensidad que es aproximadamente 600 veces más dulce que el azúcar. Se forma a partir de sacarosa mediante un proceso de modificación química con cloro lo que lo hace no metabolizable por el organismo por la presencia de átomos de cloro, según sus fabricantes.

UNEXA. Unidad de Experimentación Animal ubicada en las instalaciones del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio donde se llevó a cabo la parte experimental de este trabajo.

WHO. World Health Organization, ver OMS.

Wistar. Se trata de una línea albina de la rata parda. Fue desarrollada en el Wistar Institute en 1906 para fines de investigación biomédica y se trata de la primera rata empleada como organismo modelo (anteriormente se trabajaba con el ratón). Hoy por hoy, la mitad de las ratas de laboratorio existentes derivan de la población generada por el fisiólogo Henry Donaldson, el administrador Milton J. Greenman y la genetista y embrióloga Helen Dean King (<http://web.archive.org/web/20090802191743/http://www.amphilsoc.org/library/men-del/1998.htm>)

Nota: esta tesis utiliza el punto decimal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema General de Unidades de Medida (DOF, 2009).

RESUMEN

Un edulcorante “no calórico”¹ es un aditivo alimentario que imita el efecto del azúcar en los alimentos y bebidas. Generalmente los edulcorantes son empleados con la finalidad de endulzar y mejorar el sabor de los alimentos. Los consumidores optan por utilizarlos en lugar del azúcar debido a que según sus fabricantes no aportan calorías o sólo contribuyen con unas pocas a la dieta. Estos aditivos tienen importantes implicaciones económicas y para la salud, pues en México se está enfrentando un grave problema de mala nutrición; el sobrepeso y la obesidad aquejan a millones de personas en el país. Es por ello la importancia de aportar evidencias sobre las consecuencias del consumo a mediano plazo de edulcorantes artificiales. Por lo tanto, en este estudio se evaluaron seis edulcorantes hipocalóricos (acesulfame de potasio, aspartame, mezcla comercial acesulfame K:aspartame, sacarina de sodio, sucralosa y hojas secas de *stevia rebaudiana* Bertoni) en un modelo animal, ratas *Wistar* macho y hembra recién destetadas, contabilizando la cantidad de alimento y bebida con edulcorante consumido, así como el incremento diario de masa corporal. El experimento se realizó con 112 roedores de la cepa *Wistar*, repartidos en 7 grupos, 6 edulcorantes y un grupo control, con 8 especímenes macho y hembra cada uno. Se alimentaron con una dieta balanceada con 18% de proteína y los edulcorantes se suministraron en la bebida en concentraciones de equidulzura, tomando en cuenta a la sacarosa como la unidad. Los tratamientos estadísticos que se llevaron a cabo por cada set de datos (incremento en masa corporal, ingesta de alimento y consumo de bebida) en este trabajo fueron: 1. Identificación de datos atípicos o aberrantes por estimación de sigma basada en la desviación absoluta mediana (*MAD*, en inglés). 2. Comprobación de la normalidad a través de las pruebas de asimetría y curtosis. 3. Verificación de la homocedasticidad por el *test* de Levene. 4. Análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés). 5. Prueba de rangos múltiples *post hoc* por el *test* de Duncan. Entre los resultados obtenidos destacan que la diferencia encontrada entre los especímenes macho y hembra, en cuanto a su incremento de masa corporal, correspondieron a los valores sugeridos por la curva normal de crecimiento de ENVIGO, antes HARLAN. En relación con el consumo de bebida endulzada con edulcorantes, se encontró que ambos sexos bebieron cantidades similares; no obstante, cada sexo se comportó de manera diferente ante los edulcorantes evaluados. Las similitudes principales fueron que los grupos de acesulfame K, la mezcla comercial ace K:asp y la infusión de hojas de *stevia* se ubicaron entre los

¹ Esta forma de llamar a los edulcorantes proviene de la industria que los fabrica para incentivar su uso, como una herramienta de mercadotecnia. Sin embargo, desde el punto de vista químico, ninguna sustancia deja de producir energía calorífica al ser quemada (generalmente en un calorímetro). Por ello, en esta investigación se les llamará “hipocalóricos” porque se ingieren en cantidades muy pequeñas y, por ende, brindan pocas calorías (nota de la asesora)

grupos que consumieron el volumen mayor de líquido en ambos sexos. La infusión de *stevia* arrojó resultados interesantes pues, como ya se mencionó, se encontró dentro de los edulcorantes que más bebieron los animales modelo; sin embargo, también fueron los que más ingirieron alimento. En relación con la ingesta diaria de edulcorante, el grupo de *stevia* rebasó el límite propuesto para el Rebaudiósido A por parte de organismos internacionales (JEFCA y OMS). Por otro lado, el edulcorante aspartame, a pesar de encontrarse dentro de los grupos que tuvieron menor consumo de alimento y de bebida, los resultados de las correlaciones sugirieron una relación directa en los análisis: consumo de bebida vs. consumo de alimento y consumo de bebida vs. incremento de masa corporal. Finalmente, las tendencias en cuanto a la ganancia de masa corporal sugirieron que si el experimento hubiera durado un mayor tiempo a lo largo de los días pudieran encontrarse diferencias significativas. Para estudios posteriores se sugiere observar la respuesta de la ganancia corporal ante el consumo de edulcorantes artificiales con dietas no balanceadas o en diferentes matrices alimentarias y probar edulcorantes artificiales en especímenes longevos, debido a que el metabolismo se va modificando a lo largo de su vida.

Palabras clave: Edulcorantes artificiales, aspartame, acesulfame K, mezcla comercial acesulfame K-aspartame, sacarina, *Stevia rebaudiana* Bertoni, sucralosa, modelos animales, ratas Wistar macho, ratas Wistar hembra

SUMMARY

An artificial sweetener is a food additive which mimics the sugar flavor. Therefore, usually these sweeteners are used in order to sweeten and enhance food flavors. The consumers prefer artificial sweeteners because they believe these substances do not contribute² to the total calories in diet. These additives have strong implications in economics and public health. That is said because Mexico is dealing with a serious nutritional problem. Millions of people inside the country are suffering from overweight and obesity. That is the main reason to contribute with evidence about the consequences of consuming artificial sweeteners for a medium term. In this study, six artificial sweeteners were tested (acesulfame K, aspartame, commercial blend ace K:asp Canderel®, saccharin, sucralose and *Stevia rebaudiana* Bertoni dried leaf) in an animal model, weaning Wistar rats, including males and females. The sweetener evaluation was daily made quantifying the amount of feedstuff (chow) and drinking water with sweetener added consumed by the rodents. Moreover, the weight gain was also quantified. The bioassay was made with 112 rodents of the Wistar strain sorted in seven groups (six sweetener groups and one control group), each one with eight male rats and eight female rats. The rodents were fed with 18% protein diet and the sweeteners were supplied to the rats through their beverages. The beverages were prepared with a sweetness equivalent to the sucrose, taking the sucrose as the unit. The statistical treatments that were done for each data set (body mass gained, chow eaten, and beverage drunk) were: 1. Outliers identification using Median Absolute Deviation Method (MAD), 2. Normality verification by skewness and kurtosis, 3. Homoscedasticity checking by Levene's test, 4. Analysis of variance (ANOVA), 5. Duncan's Multiple Range Test. Some of the most important results obtained are: regarding body mass gain analysis, the difference between males and females are normal if compared with the normal growth curve provided by Envigo®. About beverage consuming, it was found that both sexes drunk the same amount of beverage. However, each sex had different behavior against sweeteners. The highlights were that the acesulfame K group, the commercial blend Canderel® group and the stevia infusion group were top drinkers in both sexes. The stevia infusion gave the most interesting results. These groups were not only top drinkers but also top eaters. Regarding the sweetener daily intake, the stevia groups passed the limit suggested for Rebaudioside A by international organizations (JECFA and WHO). On the other hand, despite that aspartame group with male rats was one of the groups which consume less beverage with sweetener

² Enterprises that produce these artificial sweeteners use as marketing strategy the saying that they do not contribute with calories when ingested. However, from a chemical point of view, all substances when introduced to a calorimeter produce energy. For this reason, in this research they will be called "hypocaloric" sweeteners since as the amounts generally consumed are very low they provide very few calories (note of the advisor)

and less chow, the result of the correlation suggests a link in: beverage intake versus chow intake and beverage intake versus body mass gain. Finally, the trend about body mass gain suggests if the experiment were longer, significant differences might be found. The recommendations for next studies are: to observe the response with unbalanced diets or with different food matrices, and the lengthening of the tests with artificial sweeteners up to old age in rodents since metabolism change with time.

Key Words: Artificial sweeteners, aspartame, acesulfame K, commercial mixture acesulfame-aspartame, saccharin, *Stevia rebaudiana* Bertoni, sucralose, animal models, weaning male Wistar rats, weaning female Wistar rats

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

1.1 Introducción

Los edulcorantes, de acuerdo con la Secretaría de Salud (Gutiérrez *et al.*, 2012), son sustancias diferentes de los mono y disacáridos, que imparten sabores dulces a los productos. El desarrollo de los edulcorantes artificiales o hipocalóricos inicia prácticamente en 1879 con el descubrimiento del primer edulcorante hipocalórico, la sacarina. A partir de este adelanto y a lo largo del siglo XX se llevaron a cabo avances en este ámbito. En 1965 surgió el aspartame; en 1967, el acesulfame de potasio y en 1976, la sucralosa. A la par de todos los descubrimientos, se realizaron estudios de toxicidad para verificar la seguridad de los edulcorantes. Algunos de los más renombrados son los publicados en 1984³ donde se relacionó el consumo de sacarina con tumores y cáncer de vejiga en ratas de laboratorio; sin embargo, posteriormente se desechó esta teoría pues la orina de los roedores posee distintos componentes a los de la humana. Más adelante, también en el siglo XX en los años 90, se señaló una conexión entre el consumo de aspartame y la incidencia de tumores cerebrales en humanos (Olney *et al.*, 1996).

Actualmente, en relación con la toxicidad se acepta la seguridad de los edulcorantes artificiales; no obstante, los estudios continúan. En 2011 Lin y Curhan (2011) encontraron que el consumo de más de dos porciones de refresco de dieta al día duplicaba el riesgo de deterioro renal en mujeres. En 2012 se sugirió un posible nexo entre los refrescos de dieta y un mayor riesgo de problemas vasculares (Gardener *et al.*, 2012). Además, diversos estudios (Nettleton *et al.*, 2009) han indicado que el consumo diario de refrescos de dieta podría estar relacionado con

³ Cita original: Hagiwara A., Fukushima S., Kitaori M., Shibata M., Ito N. (1984). Effects of three sweeteners on rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine. *Gan*, 75(9):763-768

el síndrome metabólico y diabetes tipo 2. Esto probablemente se deba a la alteración de la microbiota intestinal de los consumidores⁴ (LaMotte, 2016).

En México, al igual que en varios países del mundo, la población y sus gobiernos se enfrentan a un grave problema de mala nutrición. El sobrepeso y la obesidad aquejan a millones de personas en el país, situación que sin duda conlleva a la aparición más frecuente de enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión y otras más, aglutinadas en los términos síndrome metabólico. Estas enfermedades son uno de los problemas de mayor impacto en el mundo. Se ha considerado como el quinto factor de riesgo en las causas de muerte y se le han asociado 2.8 millones de las muertes anuales en adultos. Dos terceras partes de la población a escala mundial habitan en lugares donde la obesidad se relaciona con otras enfermedades que causan la muerte (Levy *et al.*, 2015).

Estados Unidos y México tienen el mayor índice de obesidad mundial en adultos, donde México ocupa el cuarto lugar en obesidad infantil y el décimo en diabetes mellitus. En 2008, datos de la Secretaría de Salud mostraron que el costo total de los gastos por daños a la salud asociados con adiposidad excesiva fue de 42,000 millones de pesos, equivalente al 13% del gasto en salud y se estima que para el año 2017 el costo podría llegar a los 151 mil millones de pesos, situación que, aunque pudiera ser sostenible económicamente, no soluciona la problemática y no previene la incidencia de la obesidad y las enfermedades asociadas a ésta, las cuales son incurables, costosas y discapacitantes⁵ (Levy *et al.*, 2015).

Dado el contexto anterior, los edulcorantes artificiales tienen importantes implicaciones económicas y de salud pública. Debido a ello resulta importante determinar si el consumo continuo y/o excesivo de edulcorantes hipocalóricos

⁴ Cita original: Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., Elinav, E. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514(7521), 181–186. <http://doi.org/10.1038/nature13793>

⁵ Cita original: Gutiérrez, C., Guajardo, V., Álvarez Del Río, F. 2012. “Costo de la obesidad: Las fallas del mercado y las políticas públicas de prevención y control de la obesidad en México. Capítulo 11”. En: *Obesidad en México: recomendaciones para una política de Estado*. Rivera Dommarco, J.A., Hernández-Ávila, M., Aguilar-Salinas, C.A., Vadillo-Ortega, F., Murayama-Rendón, C., eds. México: UNAM

tienen o no relación con la pandemia de sobrepeso y obesidad. Por ello, la presente investigación pretende aportar evidencias sobre las consecuencias del consumo a mediano plazo de edulcorantes artificiales, en cuanto a la ingesta de alimento, consumo de bebida y aumento de la masa corporal a partir del destete en un modelo de laboratorio.

1.2 Hipótesis

Si en los roedores existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la ingesta de alimento, consumo de bebida y aumento de la masa corporal, éstas corresponderán al consumo continuo a mediano plazo del edulcorante hipocalórico en estudio.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar a mediano plazo los efectos del consumo de seis edulcorantes hipocalóricos (acesulfame de potasio, aspartame, mezcla comercial acesulfame K:aspartame, sacarina de sodio, sucralosa y hojas secas de *Stevia rebaudiana* Bertoni) en un modelo animal, ratas *Wistar* recién destetadas macho y hembra, contabilizando la cantidad de alimento y bebida con edulcorante consumido así como el incremento diario de masa corporal.

1.3.2 Objetivos particulares

- Comparar los consumos acumulados de alimento y bebida entre los distintos edulcorantes suministrados.
- Cotejar los incrementos de masa corporal de cada uno de los grupos de edulcorantes evaluados.
- Identificar si existen diferencias entre el sexo del espécimen en cuanto al consumo de alimento y bebida.
- Observar y analizar los patrones de consumo de bebida e ingesta de alimento con la finalidad de correlacionar ambas variables.

- Cuantificar el monto diario de bebida consumida con la intención de identificar una posible conexión con la ganancia de la masa corporal.
- Medir la ingesta energética diaria de alimento y bebida consumidos con la finalidad de hallar una posible relación con la ganancia en masa corporal.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS

2.1 Obesidad y sobrepeso

La obesidad es un problema de salud que afecta a la población. Ésta se caracteriza por ser una enfermedad crónica y multifactorial donde intervienen factores genéticos, metabólicos, psicológicos y ambientales que contribuyen al desarrollo del padecimiento. Su importancia epidemiológica se debe a que participa activamente en múltiples enfermedades cardiovasculares como la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, entre otras.

El concepto de obesidad ha evolucionado a lo largo de la historia. Se considera, según la OMS (2015), como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. La Norma Oficial Mexicana NOM-174-SSA1-1998 (DOF, 1998), para el manejo integral de la obesidad menciona que la obesidad, incluyendo al sobrepeso como un estado premórbido, es una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo, acompañada de alteraciones metabólicas, que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud, asociada en la mayoría de los casos a patología endócrina, cardiovascular y ortopédica principalmente y relacionada con factores biológicos, socioculturales y psicológicos.

Otros autores establecen que es un desorden caracterizado por un incremento en la masa de tejido adiposo, que resulta de un desequilibrio sistémico entre la ingesta de alimentos y el gasto de energía o como la acumulación de grasa en los depósitos corporales por arriba de los valores óptimos, caracterizada por un resultado positivo de energía ingerida que excede el gasto energético y ocasiona aumento de la masa corporal o un desequilibrio entre el aporte calórico de la ingesta y el gasto energético dado por el metabolismo y la actividad física (Amancio-Chassin *et al.*, 2008).

Como se menciona, la Organización Mundial de la Salud define al sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser

perjudicial para la salud. Para medir el grado de acumulación de grasa corporal y con ello determinar el padecimiento, la OMS propone como indicador el índice de masa corporal (IMC). Éste es un indicador simple de la relación entre la masa y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. La definición de la OMS es la siguiente:

- Un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso
- Un IMC igual o superior a 30 determina obesidad

El IMC proporciona la medida más útil del sobrepeso y la obesidad en la población, puesto que es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. Sin embargo, hay que considerarlo solamente como indicativo porque es posible que no se corresponda con el mismo nivel en diferentes personas (fenotipo, grupo racial, etc.). El IMC se calcula dividiendo la masa corporal de una persona en kilogramos entre el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2) (OMS, 2015).

En la actualidad, la obesidad es un problema de salud que contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad de varias enfermedades. En el 2004, 13 de cada 100 muertes en México se debieron a la diabetes mellitus. Esta cifra aumenta si solamente se consideran los padecimientos con mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad o sus complicaciones; en los pacientes entre 40 y 59 años, el 25% de ellos fallecieron a consecuencia de las complicaciones (Amancio-Chassin *et al.*, 2008).

De acuerdo con los resultados nacionales de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, de 1988 a 2012 (Gutiérrez *et al.*, 2012), se ha registrado un ligero ascenso en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en menores de cinco años, medidos con el IMC. El promedio nacional aumentó casi dos puntos porcentuales, es decir de 7.8% a 9.7%. Dentro de estas cifras se observa que el principal aumento se registra en la región norte del país, que en 2012 alcanza una prevalencia de 12%. Para la población en edad escolar, de 5 a 11 años de edad se obtuvo que, utilizando los criterios de la OMS, la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad en 2012 fue de 34.4%, 19.8% para “sobrepeso” y 14.6% para obesidad. En relación con los adolescentes entre 12 y 19 años de edad, el 35% de ellos tiene sobrepeso u

obesidad, nuevamente empleando el IMC. Esto indica que más de uno de cada cinco adolescentes tiene sobrepeso y uno de cada diez presenta obesidad. En cuanto a los resultados obtenidos en adultos, la Figura 2.1 muestra la prevalencia de las categorías de IMC de acuerdo con los puntos de decisión de la OMS (2015).

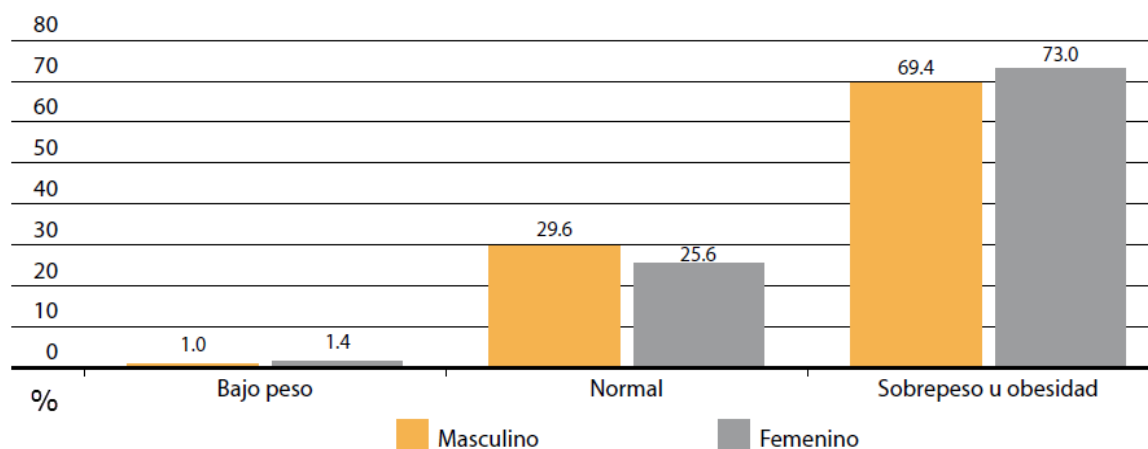


Figura 2.1 Distribución del estado nutricional de hombres y mujeres de 20 años o más, de acuerdo con la clasificación del IMC (Gutiérrez *et al.*, 2012)

Puede observarse que la prevalencia combinada de “sobrepeso” u obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) es mayor en las mujeres (73.0%) que en los hombres (69.4%) y que la prevalencia de obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) es más alta en el sexo femenino que en el masculino (Gutiérrez *et al.*, 2012).

2.2 Edulcorantes: definición y función

Un edulcorante es un aditivo alimentario que imita el efecto del azúcar en el sabor (Chattopadhyay *et al.*, 2014). Los edulcorantes artificiales de alta intensidad, también llamados edulcorantes no nutritivos o hipocalóricos, constituyen una clase importante de aditivos alimentarios que son empleados en la industria alimentaria y farmacéutica. Estos aditivos proporcionan la sensación de dulzura, pero con un escaso aporte de energía (Tovar-Pérez *et al.*, 2012)⁶.

⁶ Cita original: Zyglar, A., Wasik, A., Namies, J. 2009. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in food stuffs. Trends in Analytical Chemistry, 28(9):1082-1102

Los edulcorantes de alta intensidad son ingredientes utilizados para endulzar y mejorar el sabor de los alimentos. Estos son muchas veces más dulces que el azúcar de mesa o sacarosa, por lo que son necesarias pequeñas cantidades de los edulcorantes para lograr el mismo nivel de dulzor que el azúcar en los alimentos. Normalmente los consumidores optan por utilizarlos en lugar del azúcar por muy diversas razones, entre ellas porque piensan que no aportan calorías o sólo contribuyen unas pocas calorías a la dieta, además de que los edulcorantes de alta intensidad también generalmente no elevan los niveles de glucosa en la sangre (FDA, 2014).

Los edulcorantes se pueden clasificar según su aporte energético, uso, origen o poder edulcorante. Se presenta la clasificación propuesta por Baduí-Dergal (2006):

Edulcorantes nutritivos de poder edulcorante semejante a la sacarosa

- ✓ Mono y oligosacáridos: sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa, miel de abeja, azúcar invertido, jarabe de maíz, etcétera
- ✓ Polioles: sorbitol, xilitol, maltitol, manitol, etcétera

Edulcorantes de mayor poder edulcorante que la sacarosa

- ✓ Sintéticos: acesulfame de potasio, aspartame, ciclamato, sacarina, sucralosa, alitame
- ✓ De origen vegetal:
 - Glucósidos: glicirricina, dihidrochalconas, esteviósido
 - Proteínas: taumatina, monelina y miraculina

La percepción del sabor dulce depende de una serie de factores; por ejemplo, la composición química y física del medio donde se disperse el edulcorante impacta en el sabor y la intensidad del mismo, el pH y la temperatura de consumo igualmente influyen. Por ello los edulcorantes también se pueden ordenar por su poder edulcorante (O'Brien-Nabors, 2011). Para poder medir esta capacidad de causar dulzor o intensidad de dulzor se le asigna a la sacarosa un valor arbitrario, generalmente 1. En la Tabla 2.1 se enlista el poder edulcorante en orden ascendente de los edulcorantes más empleados en la industria alimentaria.

2.2.1 Ingesta diaria admisible

La ingesta diaria admisible (IDA) es una estimación del nivel de exposición diaria a un agente sin que presente impacto adverso en la salud de la población humana. Más específicamente, para los plaguicidas y aditivos alimentarios, es la ingesta diaria de un producto químico, que durante toda la vida parece no presentar un riesgo apreciable sobre la base de los datos conocidos hasta el momento (Shibamoto y Bjeldanes, 2009).

Tabla 2.1 Poder edulcorante de edulcorantes hipocalóricos y calóricos
(O'Brien-Nabors, 2011)

Edulcorante	Dulzor aproximado (Sacarosa=1)
Lactitol	0.4
Isomaltol	0.45-0.65
Sorbitol	0.6
Maltitol	0.9
Xilitol	1
Jarabe de maíz de alta fructosa 90%	1.0+
Ciclamato	30
Aspartame	180
Acesulfame de K	200
Sacarina	300-500
Glucósidos de esteviol	300
Sucralosa	600
Monelina	1500-2000
Alitame	2000
Taumatina	2000-3000
Neotame	8000
Advantame	20000

En la Tabla 2.2 se resumen las cantidades de la ingesta diaria admisible de edulcorantes hipocalóricos establecida por distintos organismos internacionales y nacionales; entre ellos: La Organización Mundial de la Salud en conjunto con el comité de expertos de aditivos alimentarios (*JECFA* en inglés), las agencias de regulación de los Estados Unidos (*FDA* en inglés) y de la Unión Europea (*EFSA* en inglés), la Asociación Canadiense de Diabetes (*CDA* en inglés) y la Secretaría de Salud de México (SS).

Tabla 2.2 Ingesta diaria admisible (IDA) establecida por distintos organismos – mg edulcorante/kg de masa corporal

Edulcorante	WHO / JECFA	FDA	EFSA	CDA	SS
Acesulfame de K	0 a 15 mg/kg (2013)	15 mg/kg	0 a 9 mg/kg (2000)	15 mg/kg (2013)	-
Aspartame	0 a 40 mg/kg (2013)	50 mg/kg	40 mg/kg (2013)	40 mg/kg (2013)	-
Sacarina	0 a 5 mg/kg (2013)	15 mg/kg	0 a 5 mg/kg (2007)	5 mg/kg (2013)	-
Sucralosa	0 a 15 mg/kg (2013)	5 mg/kg	0 a 15 mg/kg (2000)	9 mg/kg (2013)	-
Stevia (hojas)		No permitido como edulcorante.			-
Glucósidos de esteviol	0 a 4 mg/kg (2013)	4 mg/kg (≥95 % de pureza)	0 a 4 mg/kg (2010)	4 mg/kg (2013)	-

WHO, World Health Organization; JECFA, Joint Expert Committee in Food Additives; FDA, Food and Drug Administration; EFSA, European Food Safety Authority; CDA, Canadian Diabetes Association; SS, Secretaría de Salud.

A pesar de que la máxima autoridad en regulación de aditivos alimentarios, el comité de expertos en aditivos alimentarios (*JECFA* en inglés), establece parámetros para cada edulcorante, organismos nacionales como la *FDA* proponen variantes que incluso superan lo recomendado. Este el caso del aspartame y la sacarina. Por el lado de la regulación europea, se observa que el acesulfame de K tiene un límite aún más estricto que lo sugerido por el comité internacional.

2.2.2 Límite máximo establecido por organismos nacionales e internacionales

A partir de las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (*WHO*, por sus siglas en inglés *World Health Organization*) junto con el comité de expertos en aditivos alimentarios, cada organismo propone ciertos límites por categorías de acuerdo con la población y tendencias de consumo de cada región. En la Tabla 2.3

se muestran algunos ejemplos de los límites de cada edulcorante en distintas matrices alimentarias.

Tabla 2.3 Ejemplos de límites máximos por categorías según el organismo
(BPM, buenas prácticas de manufactura; *GRAS*, siglas en inglés, generalmente reconocido como seguro)

Edulcorante	Producto	FDA	EFSA	CDA	SS
Acesulfame de K	Gomas de mascar	BPM	800 mg/ kg (con polioles) 2000 mg/kg (sin azúcar añadida)	5000 mg/kg	BPM
Aspartame	Gomas de mascar	BPM	2500 mg/kg (con polioles) 5500 mg/kg (sin azúcar añadida)	10000 mg/kg	10000 mg/kg
Sacarina	Bebidas no alcohólicas	400 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	400 mg/kg
Sucralosa	Cereales de desayuno	BPM	400 mg/kg	1000 mg/kg	1000 mg/kg
Glucósidos de esteviol	Cereales de desayuno	<i>GRAS</i>	330 mg/kg	350 mg/kg	300 mg/kg

FDA, Food and Drug Administration; *EFSA*, European Food Safety Authority; *CDA*, Canadian Diabetes Association; *SS*, Secretaría de Salud.

2.3 Edulcorantes hipocalóricos o artificiales evaluados

2.3.1 Acesulfame de potasio

El acesulfame de potasio es un polvo blanco cristalino que pertenece a la clase de edulcorante de alta intensidad, su fórmula química es $C_4H_4KNO_4S$ y posee una masa molecular de 201.24 g/mol (Chattopadhyay *et al.*, 2014). El acesulfame de K es aproximadamente 200 veces más dulce que la sacarosa, un tercio de dulce que la sucralosa, la mitad de dulce que la sacarina de sodio, igualmente dulce que el aspartame y de 4 a 5 veces más dulce que el ciclamato de sodio (Mitchell, 2007). La vida de anaquel del compuesto puro, a temperatura ambiente, protegido o expuesto a la luz, es mayor a seis años, pues después de este periodo no muestra

signos de descomposición o diferencias analíticas en comparación del compuesto recién producido (Klug y von Rymon-Lipinski, 2011)⁷.

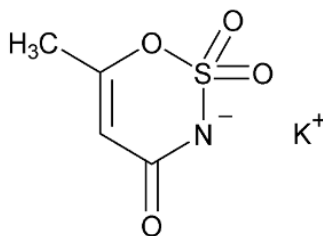


Figura 2.2 Estructura química del acesulfame de potasio

Con el objetivo lograr un dulzor similar al de la sacarosa, el acesulfame K comúnmente se mezcla con otros edulcorantes de alta intensidad. En particular, las mezclas de acesulfame K/aspartame/sacarina/ciclamato y acesulfame K/aspartame obtienen buenos resultados (Klug y von Rymon-Lipinski, 2011). En bebidas, específicamente, la mezcla de acesulfame K y jarabe de maíz de alta fructosa logra un dulzor similar al de la sacarosa⁸.

El acesulfame de potasio es típicamente empleado en postres congelados, bebidas carbonatadas y no carbonatadas, caramelos y productos de panificación (FDA, 2015). Otras aplicaciones importantes en el área de alimentos son en yogurt, galletas y pasteles. No obstante también es utilizado en el área farmacéutica y de alimentos para consumo animal (Klug y von Rymon-Lipinski, 2011).

2.3.1.1 Historia

En Alemania, en 1967, Clauss y Jensen descubrieron accidentalmente un compuesto de sabor dulce que pertenece a la clase de dióxidos dihidro-oxatiazinona (Kearsley y O'Donnell, 2012). En 1978, la Organización Mundial de la Salud registró la sal de acesulfame de potasio (acesulfame de K) como nombre genérico de este compuesto (Klug y Von Rymon-Lipinski, 2011) y en 1988 la FDA aprobó el acesulfame como edulcorante alternativo para uso específico en la categoría de alimentos y bebidas (Tovar-Pérez *et al.*, 2012). Hasta el 2003 se aprobó como

⁷ Citas originales: von Rymon-Lipinski, G.-W., Huddart, B.E. 1983. Acesulfame K. Chem. Ind. 427-432.

⁸ Cita original: Rathjen, S. 2005. US Patent Application 20050037121. Nutrinova.

edulcorante de uso general y mejorador de sabor, con restricciones de uso en carnes y productos avícolas. Actualmente es un edulcorante ampliamente utilizado en la industria alimentaria y además se vende como sustituto de azúcar bajo el nombre de: Sunnet® y Sweet One® (FDA, 2015).

2.3.1.2 Metabolismo

El acesulfame K, excretado por los riñones y, según sus fabricantes, no es metabolizado por el cuerpo humano, por lo que no otorga calorías ni tiene influencia en el balance de potasio a pesar de su contenido (Chattopadhyay *et al.*, 2014)⁹. Con el objetivo de investigar sus posibles transformaciones metabólicas se realizaron pruebas en modelos animales como ratas, cerdos y perros, así como en voluntarios humanos; para llevar a cabo el ensayo se empleó acesulfame con un carbono marcado. En las distintas especies animales y en los voluntarios se excretó el compuesto original, por lo que no se le atribuye actividad metabólica (Klug y von Rymon-Lipinski, 2011). Hay investigaciones, sin embargo, que no están de acuerdo con esto (Rogers *et al.*, 2015; Yang, 2010).

2.3.1.3 Toxicología

La toxicidad del acesulfame de potasio se ha evaluado con estudios de toxicidad aguda y crónica. El resultado del estudio de toxicidad aguda por vía oral DL₅₀ arrojó una concentración de 7431 mg/kg. En las pruebas de mediano y largo plazo, el acesulfame K es bien tolerado. En el ensayo subcrónico, se suministró acesulfame de potasio en la dieta hasta en un 10%, mientras que en la prueba crónica se administró hasta en un 3%; en ninguno de los estudios se mostró efecto negativo a la salud atribuible al consumo de acesulfame de potasio (Kearsley y O'Donnell, 2012)¹⁰.

⁹ Cita original: [ADA] American Dietetic Association. 2004. Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J. Am. Diet. Assoc.* 104:255–275

¹⁰ Cita original: Sinkeldam, E.J., Til, H.P., Groot, A.P., Willems, M.I., Kreiling, R., Mayer, D.G. 1991. Toxicity studies of acesulfame-K: a new high-intensity sweetener. In: D.G. Mayer and F.H. Kemper (eds). *Acesulfame K*. New York: Marcel Dekker, p. 27

Durante el almacenamiento de bebidas endulzadas con acesulfame de potasio, se ha encontrado como producto de descomposición cantidades mínimas de acetoacetamida; este compuesto es reconocido como producto tóxico si se consume a grandes dosis. Sin embargo, la FDA concluye que no se requieren mayores estudios debido a que la exposición humana a este producto de degradación es insignificante (Kroger *et al.*, 2006).

2.3.2 Aspartame

El aspartame es un edulcorante que se logra a partir de la unión de dos aminoácidos: L-fenilalanina y L-ácido aspártico, su fórmula molecular es: $C_{14}H_{18}N_2O_5$, posee una masa molecular de 294.31 g/mol (Figura 2.3). Físicamente el aspartame es una sustancia blanca cristalina considerada como ecológicamente segura y biodegradable, según sus fabricantes (O'Donnell, 2012)¹¹.

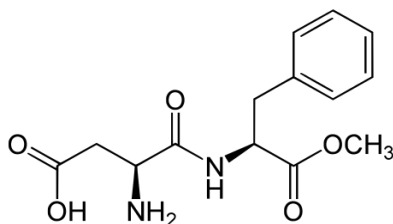


Figura 2.3 Estructura química del aspartame

El aspartame es de 150 a 200 veces más dulce que la sacarosa y no tiene resabio amargo. Su empleo se restringe a productos ácidos que no se someten a fuertes tratamientos térmicos, como las bebidas y jugos (Baduí-Dergal, 2006). Posee un perfil de dulzor similar al de la sacarosa o azúcar de mesa; sin embargo, es usualmente mezclado con otros edulcorantes, generalmente acesulfame K o sacarina, debido a que se ha reportado sinergismo con edulcorantes como sacarosa, glucosa, fructosa, sacarina, acesulfame K y *stevia* (O'Donnell, 2012). Además de las bebidas, el aspartame es ampliamente empleado en gomas de mascar, yogurt, postres y mezclas en polvo para preparar café o té instantáneo

¹¹ Cita original: Ajinomoto. Aspartame Technical Bulletin, Ajinomoto AG, Zug, Switzerland; 2001/2002.

(Shankar *et al.*, 2013). Como sustituto de azúcar, el aspartame, es distribuido comercialmente como: Nutrasweet®, Equal® y Sugar Twin® (FDA, 2015).

2.3.2.1 Historia

El químico James Schallatter descubrió el aspartame en 1965 (Shankar *et al.*, 2013). En 1981, la FDA aprobó el aditivo para usar como edulcorante de mesa, en gomas de mascar, cereales de desayuno y alimentos de base seca como gelatinas y cafés instantáneos. En 1983, la FDA aprobó el aspartame para ser empleado en bebidas carbonatadas y bases para sopas. Y finalmente en 1996, el aspartame se aprobó como edulcorante de uso general (FDA, 2015).

2.3.2.2 Metabolismo

El aspartame se hidroliza en el tracto digestivo dando lugar a tres compuestos: ácido aspártico, fenilalanina y metanol (Tovar-Pérez *et al.*, 2012). Estos son compuestos residuales naturales que se metabolizan tal como si provinieran de otras fuentes en la dieta. Como consecuencia cada gramo de aspartame proporciona 4 calorías (Chattopadhyay *et al.*, 2014).

La concentración de aspartato en plasma sanguíneo no se ve modificado incluso por el consumo de grandes cantidades de aspartame, del mismo modo sucede con la fenilalanina. El metanol liberado por el consumo de aspartame se encuentra por debajo de la exposición normal que se tiene debido al consumo de frutas, vegetales y jugos, por lo que no altera la concentración base de metanol en sangre (Abegaz *et al.*, 2011).

2.3.2.3 Toxicología

El aspartame ha sido foco de atención de diversas investigaciones toxicológicas, donde a pesar de que sus metabolitos, según las empresas que lo fabrican, no aportan compuestos nuevos a la dieta y de que son tratados por el cuerpo de la misma manera como si provinieran de otros alimentos, existen diversos informes que vinculan el aspartame con efectos adversos. Algunos de ellos incluyen: aumento de masa corporal, efectos neurotóxicos, cáncer y epilepsia (Martínez *et al.*, 2010; Rycerz y Jaworska-Adamu, 2013; Soffritti *et al.*, 2005, 2006, 2007, 2010,

2014). Estos últimos trabajos realizados desde 2005 y publicados en 2006, en los que investigadores de la *European Ramazzii Foundations* (ERF) han publicado sus estudios en donde afirman que ratas alimentadas con aspartame durante toda su vida, hasta su muerte natural, sufrieron un incremento en la incidencia de tumores malignos, linfomas y leucemia. El mismo grupo de investigadores reportaron un segundo grupo de estudios en donde se suministró aspartame a ratas macho y hembra desde el día doce de su vida hasta el final de ella y como resultado anunciaron un incremento en la incidencia de cáncer de mama en ratas hembra y en general confirman efectos carcinógenos por la exposición de aspartame (Abegaz *et al.*, 2011; Belpoggi *et al.*, 2006). Además, dentro de los estudios más destacados se encuentra la investigación llevada a cabo por John Olney y colaboradores en 1996, en la que reportaron que el aumento en la incidencia de tumores cerebrales en seres humanos en los Estados Unidos se debe a la comercialización del aspartame.

2.3.3 Sacarina

La sacarina es un edulcorante que pertenece a un grupo de sustancias que se encuentran estructuralmente relacionadas a través del ácido sulfámico. Los miembros comercialmente disponibles incluyen acesulfame K, ciclamato y sacarina (Lindsay, 2008). La sacarina comercial se encuentra en forma de sacarina de sodio o calcio. Es resistente al calentamiento, presenta alta solubilidad y estabilidad a un pH de 2 a 9. Es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa; sin embargo, su desventaja es que a altas concentraciones presenta un resabio amargo metálico (Tovar-Pérez *et al.*, 2012). Generalmente, debido a que produce efecto sinérgico, la sacarina se mezcla con otros edulcorantes como: aspartame, alitame, *stevia*, sacarosa y fructosa. Sin embargo, no se ha encontrado tal efecto con acesulfame de potasio (Bakal y O'Brien, 2011).

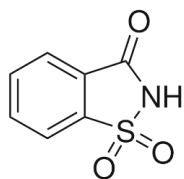


Figura 2.4 Estructura química de la sal de sacarina de sodio

Comercialmente, la sacarina de sodio se vende bajo el nombre de: Sweet 'N Low[®], Sugar Twin[®] y Necta Sweet[®]. En la industria de alimentos se usa generalmente en bebidas, panes, mermeladas, postres y dulces. Asimismo, es altamente empleado en productos de cuidado personal como: pastas de dientes, enjuagues bucales, vitaminas y productos farmacéuticos (Shankar *et al.*, 2013).

2.3.3.1 Historia

En 1878, trabajando en la Universidad John Hopkins en Baltimore, Ira Remsen y Constantine Fahlberg descubrieron un compuesto dulce que más adelante nombraron como sacarina (Bakal y O'Brien, 2011). Años después, en 1958 la *FDA* reconoce a la sacarina como aditivo *GRAS* (*Generally Recognized as Safe*, por sus siglas en inglés); sin embargo, en 1972 como respuesta a uno de los diversos estudios que relacionaba el cáncer de vejiga en ratas con las altas dosis de sacarina, la *FDA* eliminó la sacarina de la lista de aditivos *GRAS*. Posteriormente, en 1977, la *FDA* dio a conocer sus intenciones de prohibir la sacarina, tiempo en el que este edulcorante era el único de su tipo en el mercado. El congreso estadounidense propuso una ley con el que los alimentos y las bebidas endulzadas con sacarina deberían etiquetarse con una advertencia. Finalmente, debido a que evidencias en el mecanismo que causa cáncer en ratas supuestamente no era relevante para los seres humanos y que la evidencia disponible en humanos no demostraba peligro (Kroger *et al.*, 2006), en el año 2000, el programa nacional de toxicología eliminó a la sacarina de la lista de sustancias carcinógenas y actualmente los productos que contienen sacarina no requieren una etiqueta de advertencia (FDA, 2015).

2.3.3.2 Metabolismo

La sacarina, de acuerdo con sus fabricantes, no es metabolizada por las ratas ni por los humanos, sino que gran parte de ésta es absorbida por el intestino delgado. En un estudio donde se utilizó sacarina marcada en humanos, sólo el 5% de la dosis se recuperó en las heces, lo que indica que 95% de la dosis se absorbe en la circulación, mientras que, en estudios con ratas, se demostró que el nivel de absorción era dependiente de la dosis. En trabajos realizados con ratas se encontró

que la sacarina, a dosis muy altas, se concentra ligeramente en los órganos de excreción: el riñón y la vejiga, en bajos niveles en otros órganos y en mayor concentración en plasma sanguíneo. En los seres humanos, las dosis orales se excretan casi por completo por el riñón; estos resultados son consistentes con las predicciones que se tienen para una molécula altamente polar que se elimina rápidamente en la orina (DuBois, 2012).

2.3.3.3 Toxicología

La sacarina es uno de los aditivos alimentarios más estudiados hasta ahora. Ha sido sujeto de extensos trabajos científicos y numerosos debates (Bakal y O'Brien, 2011). Estudios reportan la toxicidad aguda de sacarina y en ellos se señala que su dosis letal media (LD₅₀) en rata por vía oral es de 17 g/kg (Shibamoto y Bjeldanes, 2009). La carcinogenicidad de la sacarina todavía se encuentra bajo investigación ya que hay trabajos que afirman que al colocar gránulos de sacarina y colesterol en proporción 1:4 en las vejigas de ratones, se desarrollaron tumores después de 40 a 52 semanas (Shibamoto y Bjeldanes, 2009). De manera similar, en otro estudio, se señala que al suministrar 2.6 g/kg de una mezcla de ciclamato de sodio y sacarina en una relación 10 a 1, después de un periodo de 105 semanas se encontraron tumores de vejiga en las ratas (Weihrauch y Diehl, 2004; Whitehouse et al., 2008).

A pesar de que el ser humano elimina la sacarina por la orina, existe mucha controversia sobre su inocuidad debido a que se considera que algunas de las impurezas de su síntesis son tóxicas; aun cuando esto depende de la materia prima de que se parta. Ciertos países tienen regulaciones estrictas para su consumo y exigen que se declare su presencia en los alimentos, indicando su riesgo potencial (Baduí-Dergal, 2006), pues la síntesis de la sacarina usualmente inicia con tolueno (Belitz *et al.*, 2009).

En conferencias en las que participaron ponentes nacionales e internacionales se mencionó que la sacarina se acumula en la placenta y como recomendación se sugirió que los productos elaborados con sacarina no debieran ser consumidos por mujeres embarazadas (López-García, 2015). Sin embargo, en el sitio de internet de la Asociación Canadiense de Diabetes se cita a la sacarina como edulcorante

seguro durante el embarazo (Sugar y Sweeteners, 2016). Otro estudio demostró que las ratas que consumieron líquidos endulzados con sacarina incrementaron su consumo de alimentos y ganan mayor masa corporal en comparación de las ratas consumidoras de líquidos endulzados con glucosa (Shankar *et al.*, 2013).

2.3.4 Sucralosa

La sucralosa es un edulcorante artificial de alta intensidad que es aproximadamente 600 veces más dulce que el azúcar. Este aditivo alimentario se forma a partir de sacarosa mediante un proceso de modificación química en la que se sustituyen sus tres grupos OH por tres átomos de cloro (Chattopadhyay *et al.*, 2014), dando como resultado una mejora en la intensidad del dulzor, la retención de sabor a azúcar y la obtención de una molécula muy estable. Debido a que proviene de la sacarosa sus propiedades físicas son similares, es un polvo blanco cristalino prácticamente inodoro con buena solubilidad en agua (Kearsley y O'Donnell, 2012).

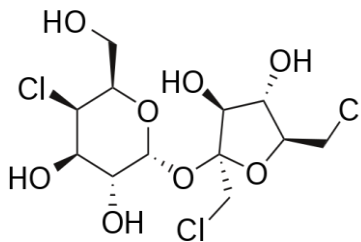


Figura 2.5 Estructura química de la sucralosa

La sucralosa es un edulcorante de uso general que en el mercado se vende bajo el nombre de Splenda®. Éste se puede encontrar en una gran variedad de alimentos, incluyendo productos horneados, bebidas, goma de mascar, gelatina y postres lácteos congelados. Es estable al calor, lo que significa que mantiene su dulzor incluso cuando se utiliza a altas temperaturas durante la cocción, por lo que es adecuado como un sustituto de azúcar en productos horneados (FDA, 2015).

2.3.4.1 Historia

El desarrollo de la sucralosa es el resultado directo de un intenso programa de investigación llevado a cabo en la década de 1970 por la empresa inglesa Tate y Lyle. Esta investigación se llevó a cabo por los científicos de la firma en Reading,

Inglaterra, en asociación con el Prof. Les Hough en la Universidad de Queen Elizabeth College de Londres (Kearsley y O'Donnell, 2012). Hasta el año de 1998, la FDA aprobó la sucralosa para su uso en 15 categorías de alimentos y posteriormente, en 1999, como edulcorante de uso general, es decir, que puede ser utilizado en todos los tipos de alimentos y bebidas. Finalmente, en el año 2000, el Comité Científico de la Alimentación (actualmente Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) aprobó el uso de este edulcorante (Kroger *et al.*, 2006).

2.3.4.2 Metabolismo

A pesar de que la sucralosa es elaborada a partir de la sacarosa o azúcar común, según sus fabricantes, el cuerpo humano no la reconoce como azúcar y no la metaboliza, por lo que no provee calorías. La mayor parte de la sucralosa ingerida se excreta directamente por las heces, mientras que del 11 al 27% se absorbe por difusión pasiva a través del tracto gastrointestinal. La cantidad que se absorbe se depura a través de la sangre por los riñones y se elimina en la orina (Chattopadhyay *et al.*, 2014). La sucralosa no se absorbe por transporte activo hacia la leche, placenta o hacia el sistema nervioso central, tampoco hay evidencia de compuesto clorados de degradación, por lo que no se considera como tóxica (Grotz *et al.*, 2011).

La sucralosa se ha considerado segura para pacientes diabéticos debido a que su consumo no afecta el metabolismo de los hidratos de carbono. Además, según sus fabricantes, este edulcorante artificial no modifica la tasa de absorción de glucosa en el intestino delgado, ni altera los niveles de las hormonas incretinas; asimismo, tampoco estimula la liberación de insulina. También otros estudios afirman que la sucralosa no tiene efecto en el apetito en adultos saludables. Sin embargo, se ha sugerido que los edulcorantes hipocalóricos tienden a inducir resistencia insulínica que puede derivar en aumentos de masa corporal (Shankar *et al.*, 2013). En ratas de laboratorio tiende a aumentar el deseo de ingerir el agua endulzada con sucralosa (Martínez *et al.*, 2010) y desemboca en un aumento en masa corporal.

2.3.4.3 Toxicología

El perfil de seguridad de la sucralosa ha sido extensamente revisado, diversos reportes afirman que no es un compuesto carcinogénico, genotóxico, biorreactivo ni bioacumulable en modelos animales o humanos, debido a ello se considera seguro su uso a largo plazo. No obstante, algunos estudios sugieren efectos adversos a la salud, en específico, alteraciones en tracto gastrointestinal; ratas que consumieron Splenda® por doce semanas tuvieron un significativo decremento de bacterias benéficas del intestino causando aumento de masa corporal y aumento de pH en heces debido a producción de ácidos grasos de cadena corta por las bacterias del colon. Los cambios ocurridos en tracto gastrointestinal incluso suceden suministrando las dosis aprobadas por la FDA para consumo humano (Shankar *et al.*, 2013; Suez *et al.*, 2016).

Aunque la sucralosa se utiliza a nivel mundial como edulcorante en miles de productos de alimentos y bebidas, de acuerdo con Schiffman y Rother (2013), la sucralosa altera los parámetros metabólicos y su efecto crónico sobre la masa corporal son desconocidos. Se ha reportado que la sucralosa modula el transporte de glucosa y la secreción de insulina en roedores. También se ha señalado que aumenta los niveles de glucosa e insulina en mujeres obesas (Pepino *et al.*, 2013). Además, se ha encontrado que la sucralosa para causar la muerte de células β exhibiendo efecto diabetogénico en el páncreas. Por lo que el uso de la sucralosa no puede ser garantizado satisfactoriamente como tratamiento para diabéticos. Por todo lo anterior, la sucralosa se debe utilizar con precaución (Gupta *et al.*, 2014). Un artículo científico muy reciente (Soffritti *et al.*, 2016) señala: “Los hallazgos de esta investigación no apoyan datos previos de que la sucralosa es biológicamente inerte. Por ello, son necesarios más estudios que corroboren la inocuidad de la sucralosa. Considerando que millones de personas están expuestas a este edulcorante, los estudios son urgente”.

2.3.5 Stevia

Stevia es el nombre común que ha adoptado la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Es un arbusto ramificado y espeso de la Familia *Asteraceae* nativa de la región de

Amambay del noreste de Paraguay; por lo que la planta se produce en las regiones vecinas de Brasil y Argentina. No obstante, hoy en día, su cultivo se ha extendido a otras partes del mundo, incluyendo Canadá y algunas zonas de Asia y Europa (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012). En México existen zonas de alto potencial para cultivar *Stevia rebaudiana* con éxito. Como primera opción figura el estado de Sinaloa, cuya latitud coincide con la de región originaria de la planta, por lo que presenta condiciones ideales de clima, suelos, vegetación, altitud, topografía e hidrología para su cultivo. Otros estados considerados con grandes posibilidades son: Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Varias empresas y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) proyectan cultivar en México 7200 hectáreas de *Stevia* durante los próximos cuatro años (Rodríguez-Alegría y López-Munguía, 2014).

En la actualidad, la planta de *Stevia* es bien conocida por su alto contenido de diterpeno dulce, que va aproximadamente de un 4 a un 20% en la hoja en base seca (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012). En América del Sur, cientos de años atrás, la planta principalmente había sido utilizada con fines medicinales (Urban *et al.*, 2015). Posteriormente, en los Estados Unidos y Europa, los extractos o las hojas de *stevia* solían venderse como suplementos dietéticos a base de hierbas tradicionales (Urban *et al.*, 2015). Por ello surgió la necesidad de definir con precisión las especificaciones para cumplir con los requisitos reglamentarios, lo que condujo al desarrollo de extractos altamente puros que contienen más del 95% de glucósidos de esteviol; estos son un grupo de compuestos dulces de alta intensidad hipocalóricos presentes en *S. rebaudiana* (Urban *et al.*, 2015).

El resultado de la sustitución de los grupos R₁ y R₂ con distintos tipos de glúcidos dan los glucósidos de esteviol (Urban *et al.*, 2015). Hasta el momento se han encontrado diez diferentes glucósidos con sabor dulce, teniendo en común como estructura central al esteviol. En la Tabla 2.4 se aprecian los grupos R de los glucósidos de esteviol más comunes y su comparación de dulzor con la sacarosa. Las Figuras 2.6 y 2.7 muestran dos de sus componentes que le confieren dulzor.

Tabla 2.4 Grupos R de los glucósidos de esteviol más comunes y su comparación de dulzor con la sacarosa (Carakostas *et al.*, 2011)

Compuesto	R ₁	R ₂	Dulzor en comparación con sacarosa=1
Dulcósido A	β-glc-	α-rha-β-glc	30
Rebaudiósido A	β-glc-	(β-glc)₂-β-glc-	200 a 300
Rebaudiósido B	H	(β-glc) ₂ -β-glc-	150
Rebaudiósido C	β-glc-	(β-glc,α-rha-)-β-glc-	30
Rebaudiósido D	β-glc-β-glc-	(β-glc) ₂ -β-glc-	221
Rebaudiósido E	β-glc-β-glc-	β-glc-β-glc-	174
Rebaudiósido F	β-glc-	(β-glc,β-xyl-)-β-glc-	200
Rubusósido	β-glc-	B-glc-	114
Esteviolbiósido	H	β-glc-β-glc-	90
Esteviósido	β-glc-	β-glc-β-glc-	150 a 250

*rha = ramnosa, glc=glucosa, xyl=xilosa

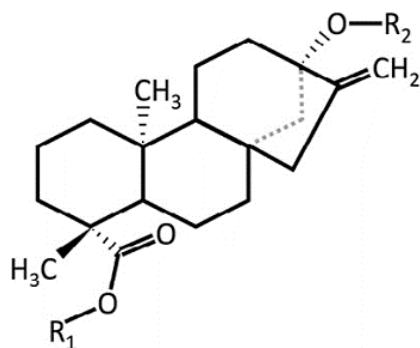


Figura 2.6 Aglicona: estructura química central de los glucósidos de esteviol (Urban *et al.*, 2015)

La *stevia* como edulcorante purificado, es decir, el rebaudiósido A trabaja en sinergia con edulcorantes hipocalóricos y calóricos tales como el aspartame, acesulfame de potasio, sacarina, sucralosa, glucosa, fructosa, sacarosa y jarabe de maíz de alta fructosa. Las aplicaciones más comunes de este edulcorante son:

bebidas carbonatadas y no alcohólicas, gomas de mascar, yogurt y pasteles (Carakostas *et al.*, 2011). Como edulcorante de mesa, el rebaudiósido A, se encuentra en el mercado bajo el nombre de Truvia®, PureVia® y Enliten® (FDA, 2015).

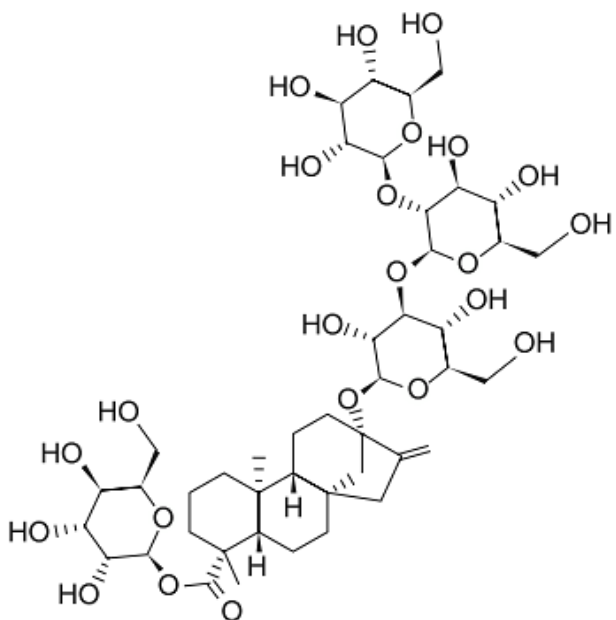


Figura 2.7 Estructura química del rebaudiósido A: glucósido de esteviol mayormente empleado en la actualidad (Lindley, 2012)

2.3.5.1 Historia

En 1899, la *stevia* fue clasificada botánicamente por Moisés Santiago Bertoni. Anteriormente era llamada *Eupatorium rebaudiana*; sin embargo, en 1905, su nombre cambió a la *Stevia rebaudiana* Bertoni. El compuesto dulce fue aislado por primera vez en 1909 y hasta 1931 el extracto fue purificado para obtener el esteviósido. Su estructura química se estableció en 1952 como un diterpeno glucosídico. Durante la década de 1970, otros compuestos fueron aislados incluyendo el rebaudiósido A (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012).

Comercialmente hablando, en la década de los años 70 del siglo XX, en Japón se vendía extracto crudo de *stevia* como edulcorante. A mediados de 1990, en los Estados Unidos, se vendían hojas de *stevia* como suplemento alimentario

(Carakostas *et al.*, 2011). Actualmente, la *FDA* permite como edulcorante *GRAS* (*Generally Recognized as Safe*, por sus siglas en inglés) a los glucósidos de esteviol (Rebaudiósido A), con un mínimo de 95% de pureza, mientras que el uso de las hojas de *stevia* y los extractos crudos no se consideran aditivos *GRAS* y su importación y uso como edulcorante está prohibida (*FDA*, 2015).

2.3.5.2 Metabolismo

Las enzimas y los ácidos que se encuentran en la boca, estómago o intestino delgado del ser humano pero, según sus comercializadores, no hidrolizan los glucósidos de esteviol, por lo que estos compuestos pasan parcial o completamente intactos a lo largo del tracto gastrointestinal. Todos los glucósidos de la *stevia*, incluyendo el esteviósido y el rebaudiósido A, se hidrolizan en un metabolito común: la aglicona de esteviol (Figura 2.6). Dicha transformación se lleva a cabo por las bacterias del colon, en gran parte por *Bacteroides* sp., y al realizarse se liberan restos de glucosa que probablemente se utilicen como energía por los mismos microorganismos del colon. El esteviol es entonces absorbido por el colon y es eliminado por la vía fecal a través de la recirculación enterohepática o vía urinaria como glucurónido. No se han encontrado evidencias de bioacumulación de esteviol (Carakostas *et al.*, 2011).

2.3.5.3 Toxicología

Se han realizado gran número de estudios toxicológicos con extractos crudos de la planta de *stevia* y más recientemente con extractos purificados. Algunos informes reportan no toxicidad debido a la exposición oral diaria de esteviósido para un consumo de 2500 mg/kg/día durante 13 semanas en ratas hembra y macho (Curry y Roberts, 2008; Nikiforov y Eapen, 2008). Resultados similares se obtuvieron con dosis de rebaudiósido A en concentraciones de 4161 mg/kg/día y 4645 mg/kg/día para ratas macho y hembra respectivamente por un periodo análogo (Curry y Roberts, 2008; Nikiforov y Eapen, 2008).

En investigaciones bajo el mismo modelo animal se obtuvieron que los órganos reproductivos y riñones no fueron afectados por las altas dosis de extracto crudo

(Carakostas *et al.*, 2008). No obstante, en una investigación publicada en 1968 se encontró que la fertilidad en ratas hembra se había reducido al suministrarles extracto de *stevia* crudo en una concentración al 5% (Planas y Kuć, 1968); igualmente se encontraron afecciones en roedores macho, pues hubo una disminución en cuanto a la masa de los órganos reproductivos usando extractos semiduros (Melis, 1999). Por el contrario, en otro trabajo realizado con ratas *Wistar* hembra en donde se les suministró *Stevia rebaudiana* en distintas concentraciones por 60 días, no se observaron efectos adversos en fertilidad ni anormalidades en el embarazo (Saenphet *et al.*, 2006).

La JECFA, después de distintas evaluaciones, en 2004 declaró al esteviósido y rebaudiósido A como no genotóxicos. Sin embargo, en trabajos realizados con esteviósidos y *Salmonella typhimurium* cepa TA98 se obtuvieron resultados positivos. Asimismo, en cuanto a mutagenicidad, se observaron resultados similares en *Salmonella typhimurium* cepa TM977. Por otro lado, en relación con la carcinogenicidad, no se reportaron efectos adversos en un estudio realizado con ratas durante 13 semanas con dosis de 2.5% y 5% de esteviósido en la dieta con un 95.6% de pureza (Carakostas *et al.*, 2011).

2.3.6 Mezcla comercial acesulfame K:aspartame

La mejora sinérgica en el dulzor de los edulcorantes se ha estudiado a detalle con diferentes mezclas; por ejemplo, una mezcla de acesulfame de potasio con aspartame en las mismas proporciones posee un dulzor 300 veces mayor al de la sacarosa, incluso a concentraciones elevadas (Klug y von Rymon-Lipinski, 2011). En la Figura 2.8 se aprecia el equivalente a sacarosa en intensidad de dulzor a distintas concentraciones de aspartame y acesulfame de potasio. La mezcla comercial acesulfame de potasio:aspartame se vende en México bajo el nombre de Canderel Clásico®. Sin embargo, en cuanto a las aplicaciones industriales, esta unión de edulcorantes se emplea no como una mezcla física, sino que utiliza como una mezcla química conocida como sal de aspartame y acesulfame.

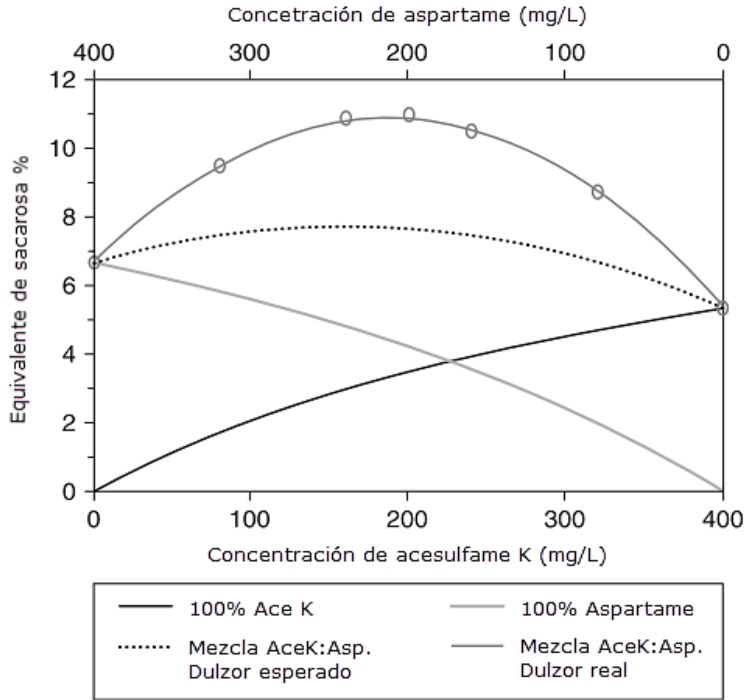


Figura 2.8 Intensidad de dulzor del acesulfame de K (Ace K), aspartame y su mezcla (50:50) (Klug y Von Rymon-Lipinsky, 2011)

La reacción química para la obtención de la sal se muestra en la Figura 2.9 como un esquema de la reacción.

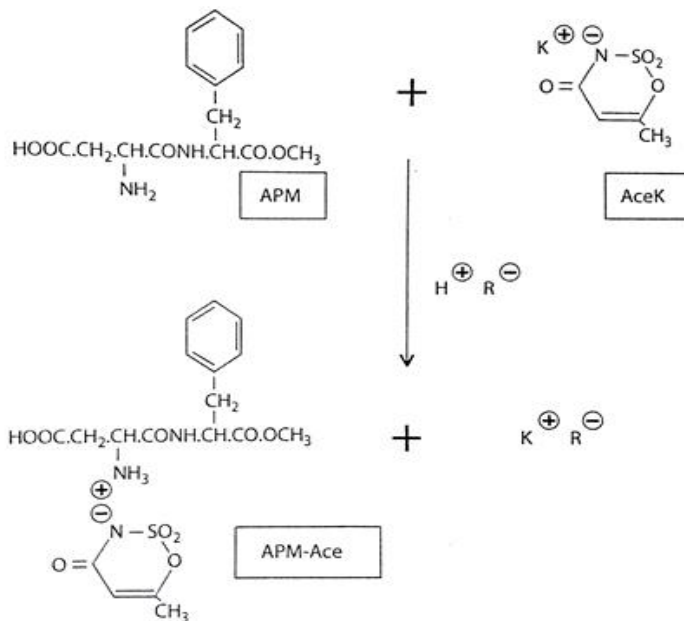


Figura 2.9 Esquema de la reacción de preparación de la sal de aspartame:acesulfame (Fry *et al.*, 2011)¹²

¹² Imagen original: Reprinted from Fry, J.C. 1996. Two in one—an innovation in sweeteners. Low-Calorie Sweeteners. Openings in an Expanding European Market. In Proceedings of 1996 International Sweeteners Association Conference. Lisansky, S.G., Corti, A., eds. Newbury: CPL Press. Pp. 58-68. With permission (copiado de la referencia de Fry *et al.*, 2011).

Como se mencionó anteriormente, la unión física de estos edulcorantes proporciona sinérgicamente un dulzor cientos de veces mayor al de la sacarosa; como sal no sólo se obtiene dicha característica, sino que la estabilidad del edulcorante y su vida de anaquel se ve favorecida en matrices alimentarias como bebidas carbonatadas. En el caso de las gomas de mascar, la sal de aspartame y acesulfame tiene notables ventajas como dulzor de larga duración, alta estabilidad, larga vida de anaquel y un pico de dulzor después de los primeros minutos de la masticación (Fry *et al.*, 2011). Enseguida, en la Tabla 2.5, se ejemplifican las concentraciones comúnmente empleadas de sal de acesulfame y aspartame en varias matrices alimentarias.

Tabla 2.5 Pautas para la concentración de la sal aspartame:acesulfame en varios productos (Fry *et al.*, 2011)¹³

Producto	Concentración de la sal lista para consumir en ppm
Bebida carbonatada lima-limón	270
Té de limón instantáneo	200
Mezcla para gelatina	435
Gomas de mascar	2700
Dulce macizo	1000
Chocolate	800
Tableta como sustituto de azúcar (1 tableta = 1 cucharada de azúcar)	11 mg/tableta

2.3.6.1 Historia

La sal de aspartame y acesulfame es el primer compuesto comercialmente disponible de sales edulcorante-edulcorante, pues la mayoría de los edulcorantes de alta intensidad se comercializan como sales metálicas (Fry *et al.*, 2011).

2.3.6.2 Metabolismo

El aspartame:acesulfame, como sal, se disocia inmediatamente en disolución acuosa, lo que libera las moléculas de los edulcorantes originales, por consecuencia, éstos siguen sus rutas metabólicas mencionadas con anterioridad

¹³ Fuente original: The NutraSweet Company, Chicago, IL, US

(Fry *et al.*, 2011). En el caso de la mezcla comercial que se vende en México, de acuerdo con los fabricantes, Canderel® Clásico no son hidratos de carbono por lo que no modifica los niveles de glucosa sanguínea ni de insulina (MERISANT, 2014).

2.3.6.3 Toxicología

La síntesis de la sal aspartame-acesulfame es una recristalización y purificación de los edulcorantes individuales que originalmente son de grado alimentario, esto resulta en una reducción de impurezas por lo que no se añaden problemas toxicológicos relacionados con su producción. Debido a ello, el destino toxicológico de esta sal es el mismo que el de los edulcorantes originales. No se ha encontrado diferencia en relación con la toxicología entre los compuestos originales y el compuesto salino (Fry *et al.*, 2011).

En cuanto a la mezcla física de los edulcorantes, Canderel® Clásico (aspartame:acesulfame K), según sus fabricantes, puede ser consumido por mujeres embarazadas y niños, siempre y cuando lo hagan junto con una dieta completa, suficiente, variada y equilibrada, al igual que el resto de los miembros de la familia. Estudios demuestran que los niños metabolizan cualquiera de los ingredientes de Canderel® de la misma manera que los adultos y que no afecta en forma alguna al feto o a la mujer embarazada (MERISANT, 2014).

2.4 Estudios recientes que presenten pros y contras del uso de estos edulcorantes

Existen posturas a favor y en contra del consumo de edulcorantes artificiales. Éstas generalmente están relacionadas con intereses económicos; sin embargo, se encuentra que en las publicaciones científicas, bibliográficas y demás evidencias propuestas no se ha llegado a un acuerdo acerca de los beneficios o daños a la salud por el consumo de los edulcorantes hipocalóricos. Se sabe que, actualmente, gran parte de la población sufre de diabetes, obesidad, hipertensión y enfermedades del corazón y que su incidencia sigue en aumento. Estas son algunas de las razones por las que los edulcorantes hipocalóricos están llamando la atención de los consumidores (Chattopadhyay *et al.*, 2014). Dentro de los beneficios reportados por

sus fabricantes se señala que pueden ayudar a los individuos que intentan controlar su masa corporal; sin embargo, los principales beneficiados con el desarrollo de los edulcorantes artificiales son las industrias pues tienen a su alcance una variedad donde pueden elegir dependiendo de su perfil de sabor, estabilidad y costos (Kroger *et al.*, 2006).

La mayoría de las publicaciones científicas anuncian que no existen evidencias para alentar o desalentar su uso; no obstante, organismos como la Academia de Nutrición y Dietética (*Academy of Nutrition and Dietetics* en inglés) recomienda el uso moderado de edulcorantes artificiales junto con una dieta basada en las recomendaciones por las guías alimentarias para los estadounidenses (*Dietary Guidelines for Americans*) (Shankar *et al.*, 2013). Por otro lado, se reporta que no se han encontrado efectos benéficos, en adultos o en niños, que alienten el consumo regular de los edulcorantes hipocalóricos (Bruyère *et al.*, 2015).

2.5 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999

2.5.1 Alimento

De acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 2001), el alimento para todas las especies, en este caso ratas de laboratorio, debe cumplir con las siguientes características:

- a) Debe estar libre de aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, plaguicidas y contaminantes.
- b) Debe estar dentro de su periodo de caducidad.
- c) Deberá ser almacenado en bodegas o cuartos desinfectados, secos y ventilados, sobre tarimas o en contenedores.

El alimento debe proporcionarse a libre acceso (*ad libitum* en latín) o en forma restringida dependiendo de las necesidades de la cepa y de los procedimientos experimentales. El alimento debe ser palatable, de una fórmula nutricional constante y certificado en cuanto a su composición. En la Tabla 2.6 se describe la composición general de un alimento para roedores de laboratorio en base seca para cubrir las

necesidades de crecimiento, gestación, lactación y mantenimiento. Se presenta en la tabla el que es específico para rata de laboratorio.

Tabla 2.6 Resumen de la composición bromatológica requerida para un alimento de roedores de laboratorio, NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 2001)

Proteína cruda %	Grasa cruda %	Fibra cruda %	Cenizas %	Consumo diario de alimento	Consumo diario de agua
12 a 24	4 a 11	3 a 6	6 a 8	10 a 20 g	20 a 45 mL

Los valores normales de consumo de alimento van desde los reportados en la norma hasta una ingesta de 20 a 40 gramos por día según Gad (2007).

2.5.2 Agua como líquido vital

Generalmente se utilizan botellas o sistemas automáticos para suministrar agua a los animales. Cuando se utilizan las botellas se sellan con tapones de goma equipados con tubos de acero inoxidable con aberturas estrechas. Al colocar las botellas, éstas se unen a las jaulas lo que permite que los roedores puedan lamer la apertura que les dará una gota de agua. Los sistemas de botellas de agua son útiles cuando el consumo de agua se va a medir, es decir, que el compuesto de estudio se suministra a través del agua. Este sistema es económico de implementar; sin embargo, incurre en mayores costos en mano de obra debido al lavado de botellas y esterilización de las mismas. El consumo normal de agua como líquido vital se señala en cantidades de 10 a 12 mL por 100 gramos de masa corporal al día (Gad, 2007).

2.5.3 Espacio mínimo requerido para roedores de laboratorio en un bioensayo

El equipo para alojar a los animales debe estar diseñado para facilitar el bienestar del animal, satisfacer las necesidades de la investigación y reducir o eliminar las variables experimentales, por lo cual el equipo para confinar al animal o encierro primario debe:

- a) Proporcionar el espacio adecuado que permita movimientos y adopciones de las posturas normales de la especie
- b) Ser cerrado a prueba de escape y proteger al animal de amenazas externas
- c) Ser adecuado en ventilación y conforme a las necesidades biológicas de la especie
- d) Ser resistente al lavado y a la desinfección frecuente

Los roedores deben mantenerse en algunos de los tres tipos de jaulas o cajas existentes:

- a) Cajas con pisos y paredes continuas sólidas y con tapa removible de reja o perforadas, en los cobayos pueden ser sin tapa
- b) Jaulas enteramente hechas de malla de alambre
- c) Combinación de los dos tipos:
 - o Las jaulas consideradas en el inciso a) se podrán utilizar para cualquier etapa de desarrollo y experimentación
 - o Las jaulas y cajas consideradas en los incisos b) y c) con pisos de malla de alambre sólo podrán utilizarse cuando las condiciones experimentales lo exijan y nunca para parición, destete o mantenimiento prolongado. Los hámsteres deben alojarse en cajas con piso sólido

En la Tabla 2.7 se muestran, en específico, las medidas establecidas de las jaulas o cajas en donde se contienen a las ratas de laboratorio según la NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 2001).

Tabla 2.7 Resumen del espacio mínimo para roedores de laboratorio mantenidos en jaula o caja (DOF, 2001)

Masa en gramos	Área del piso por animal en cm ²	Altura en cm del piso al techo de la jaula o caja
<100	110	18
100 a 300	187	20
300 a 400	258	20
400 a 500	387	20
> 500	452	20

Además, los confinamientos o encierros primarios deben tener las siguientes características:

- a) Satisfacer las necesidades fisiológicas (alimentación, defecación, micción u otros) y conductuales de los animales, permitiendo los movimientos normales y ajustes posturales característicos de la especie
- b) Cuando esté indicado, deberá favorecer la reproducción y la crianza
- c) Permitir las interacciones sociales entre los individuos de la especie, el establecimiento de jerarquías y las conductas de escape
- d) Brindar una ventilación e iluminación adecuadas
- e) Favorecer que los animales se mantengan limpios y secos
- f) Ser seguras, impidiendo el escape de los animales o el entrampamiento de sus extremidades
- g) Deben tener bordes y aristas redondeadas
- h) El diseño debe facilitar la limpieza y saneamiento rutinarios y también las faenas de cambio, llenado y suministro de agua y alimento
- i) Permitir la observación de los animales
- j) Los materiales para la construcción de las jaulas deben ser resistentes, durables e impermeables
- k) Deben mantenerse en buenas condiciones de uso
- l) Se recomienda alojar a los roedores en jaulas con piso sólido y material de lecho

En cuanto a la cama o nido, los roedores alojados en cajas con piso sólido deben tener el material de cama suficiente que garantice la absorción de su orina, excremento y desperdicio de agua, favorecer su aislamiento térmico y construcción de nido. Los materiales de cama deben seleccionarse por su suavidad, capacidad de absorción, laxitud, ausencia de polvo y fragmentación, así como por la constancia de su calidad, neutralidad química, inercia nutricional y carencia de palatabilidad.

2.5.4 Especificaciones de las instalaciones para animales de laboratorio

Las instalaciones de animales de laboratorio, ya sean para reproducción o experimentación, deben mantener una temperatura estable dentro de los cuartos, misma que oscilará de acuerdo con lo establecido. Para el caso particular de las ratas se señala un rango de temperatura de 18 a 26°C. La sala de experimentación 516 de la Unidad de Experimentación Animal, UNEXA, donde se realizó esta investigación, estuvo aproximadamente a una temperatura promedio de 22°C. En la Figura 2.10 se muestra el termostato ubicado dentro de la mencionada sala.



Figura 2.10 Termostato para el control de temperatura de la sala de experimentación 516 de la UNEXA

El alojamiento animal debe poseer un sistema de ventilación eficaz. El sistema debe funcionar ininterrumpidamente las 24 horas del día, a fin de favorecer una definición ambiental aceptable que no afecte negativamente la salud animal y la respuesta experimental. El propósito del sistema de ventilación es el de proporcionar aire fresco, la temperatura de control y humedad, eliminar o diluir los contaminantes químicos como el amoníaco a partir de residuos animales y ayudar al control de la transmisión de agentes infecciosos (Gad, 2007).

La iluminación adecuada y el ciclo de luz juegan un papel clave en el mantenimiento de la fisiología y el comportamiento de la rata. Ésta es un animal nocturno y es más activa durante la noche. La iluminación dentro del alojamiento animal debe ser de un nivel suficiente para proporcionar a los animales bienestar y permitir las actividades de cuidado de los animales y condiciones de trabajo seguras para el personal. La luz en las salas de los animales debe proveer una visión adecuada y

la regulación neuroendocrina de los ciclos circadianos y diurnos. La mayoría de las instalaciones de investigación operan en un ciclo de 12 horas luz / 12 h oscuridad (Gad, 2007)¹⁴. De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (DOF, 2001), las instalaciones del bioterio estarán iluminadas mediante luz artificial tipo luz de día usando lámparas fluorescentes. El control de los ciclos de luz se efectuará por medio del uso de relojes interruptores automáticos, ajustados de acuerdo con las necesidades de los animales en cuestión. En la Figura 2.11 se muestra el dispositivo para el control de los ciclos de luz y oscuridad de la sala 516 de la UNEXA. Los ciclos de luz van de las 6 horas hasta las 18 horas.



Figura 2.11 Temporizador para el control de los ciclos de luz y oscuridad de la sala de experimentación 516 de la UNEXA

¹⁴ Cita original: ILAR, NRC. 1997. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC: National Academy of Sciences

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

3.1 Desarrollo experimental

En la Figura 3.1 se presenta el desarrollo experimental llevado a cabo en la presente investigación.



Figura 3.1 Metodología seguida durante el desarrollo experimental

El experimento global del que esta investigación forma parte se realizó con 176 especímenes machos y hembras repartidos en 11 grupos con 8 integrantes cada uno. Sin embargo, para fines de esta fase de la investigación, únicamente se tomaron en cuenta los seis grupos de edulcorantes no nutritivos más un grupo control que consumió la misma dieta, Teklad Global, que todos los demás grupos y agua potable sin edulcorante. A la llegada de los roedores se realizó un marcaje por medio de muescas y se tomó su masa corporal inicial. Posteriormente, se colocaron en sus respectivas jaulas y se acomodaron aleatoriamente en los estantes. La preparación de bebidas y su cuantificación, así como el rellenado de la dieta y su medición se realizaron siempre a la misma hora cada día. El lavado y esterilizado de bebederos y cajas se realizó semanalmente. Al finalizar el tiempo de experimentación se llevó a cabo la eutanasia de los especímenes para la recolección de sus órganos que se analizarán en estudios posteriores.

3.2 Condiciones experimentales

El estudio se inició con la llegada del primer bloque de roedores los días 3 y 5 de agosto de 2015. Por cuestiones de espacio en las salas de experimentación, el total de los roedores se dividieron en dos bloques de 88 especímenes cada uno. Como se mencionó anteriormente se trabajó con un total de 176 ratas dado que esta investigación es un proyecto global en el que se realizarán estudios complementarios al presente. El 3 de agosto de 2015 se entregaron 19 ratas hembra de la cepa *Wistar* y 25 ratas macho de la misma cepa, ambos sexos con una masa corporal entre los 35 y 49 gramos, mientras que, en la segunda fecha, el 5 de agosto de 2015, se recibieron 25 ratas hembra y 19 machos con las mismas especificaciones mencionadas anteriormente. Con ambas entregas se anexaron los certificados de salud expedidos por la compañía Harlan Laboratories, S.A de C.V (copias de los certificados en el Anexo 2). Los roedores se alojaron en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) de la Facultad de Química UNAM.

A la llegada de los roedores se realizó el marcaje de identificación por medio del código de muescas, así como la cuantificación y registro de su masa corporal inicial,

como ya se mencionó. A continuación, en las Figuras 3.2 a 3.5, se muestran las fotografías que ejemplifican el proceso.



Figura 3.2 Recepción de los roedores en sus contenedores



Figura 3.3 Primer pesaje de masa corporal



Figura 3.4 Esquema de la identificación del marcaje con muescas



Figura 3.5 Ejecución del marcaje con muescas por el personal especializado

El segundo bloque de roedores se recibió en las instalaciones de la UNEXA de modo similar, llevándose a cabo el mismo procedimiento mencionado con anterioridad. El día 9 de diciembre de 2015 se alojaron 22 ratas hembra y 22 ratas macho con una masa inicial entre los 35 y 49 gramos. Asimismo, se recibieron el 11 de diciembre del mismo año el resto de los roedores, 22 hembras y 22 machos; para así sumar un total de 88 roedores en el segundo bloque y finalmente 176 especímenes fueron los que conformaron la investigación. Con las entregas mencionadas se anexaron los certificados de salud correspondientes (Copias de los certificados en el Anexo 2).

3.3 Aleatorización y orden de los especímenes

La relación de machos y hembras en los bloques, así como la distribución aleatoria de los especímenes en los *racks* de la sala de experimentación se realizó por medio del *software* estadístico Statgraphics Centurion XV para evitar el posible sesgo. En las Tablas 3.1 y 3.3 se muestran las listas con las que se llevó a cabo el acomodo de todos los especímenes en la sala 516 de la UNEXA, tanto los del proyecto global como los de esta fase de la investigación. Para ello, se siguió el orden indicado a continuación para colocar a los roedores desde el primer *rack* hasta el tercero, iniciando de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo.

Tabla 3.1 Aleatorización de los roedores del primer bloque de 44 hembras y 44 machos

ID	Tratamiento	Sexo	ID	Tratamiento	Sexo
26	Fructosa	Hembra	45	Glucosa	Macho
1	Sacarosa	Macho	64	Sacarina	Hembra
27	Glucosa	Hembra	65	Control AIN93M ¹⁵	Hembra
2	Sacarina	Macho	46	Sucralosa	Macho
3	Control Teklad	Macho	47	Acesulfame	Macho
4	Sacarosa	Macho	66	Control AIN93M ¹⁵	Hembra
5	Glucosa	Macho	48	Sacarosa	Macho
28	Control Teklad	Hembra	49	Acesulfame	Macho
6	Fructosa	Macho	67	Sacarosa	Hembra
7	Sacarina	Macho	50	Sacarosa	Macho
8	Glucosa	Macho	51	Sucralosa	Macho
9	Sucralosa	Macho	68	Mezcla ace:asp	Hembra
10	Sacarosa	Macho	52	Mezcla ace:asp	Macho
29	Sacarosa	Hembra	69	Sacarina	Hembra
30	Glucosa	Hembra	53	Sucralosa	Macho
31	Fructosa	Hembra	70	Mezcla ace:asp	Hembra
11	Glucosa	Macho	54	Sacarosa	Macho
12	Mezcla ace:asp	Macho	55	Acesulfame	Macho
32	Acesulfame	Hembra	56	Stevia	Macho
33	Sacarina	Hembra	57	Control Teklad	Macho
13	Acesulfame	Macho	71	Control AIN93M ¹⁵	Hembra
14	Sacarina	Macho	72	Sacarosa	Hembra
34	Glucosa	Hembra	73	Stevia	Hembra
35	Control AIN93M ¹⁵	Hembra	74	Sacarosa	Hembra

¹⁵ En el experimento global, por recomendaciones de personal del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (ICMyNSZ) se manejaron dos controles. Ambos bebieron agua potable durante todo el experimento y pasados dos meses de experimentación a uno de ellos se le cambió la dieta control denominado Teklad Global por una denominada AIN93M que contiene menos proteína, ya que para los estudios bioquímicos que se realizarán con órganos y plasma es importante determinar el efecto de la dieta con menos proteína. En esta investigación solamente se tomará en cuenta el grupo control que ingería la

Tabla 3.1 Aleatorización de los roedores del primer bloque de 44 hembras y 44 machos (continuación)

ID	Tratamiento	Sexo	ID	Tratamiento	Sexo
15	Mezcla ace:asp	Macho	75	Acesulfame	Hembra
36	Sacarina	Hembra	58	Control AIN93M ¹⁵	Macho
37	Stevia	Hembra	59	Acesulfame	Macho
16	Control AIN93M ¹⁵	Macho	76	Glucosa	Hembra
17	Mezcla ace:asp	Macho	77	Acesulfame	Hembra
38	Control Teklad	Hembra	78	Aspartame	Hembra
18	Stevia	Macho	79	Mezcla ace:asp	Hembra
39	Acesulfame	Hembra	80	Stevia	Hembra
40	Acesulfame	Hembra	60	Sacarina	Macho
19	Stevia	Macho	81	Control AIN93M ¹⁵	Hembra
41	Sacarina	Hembra	82	Aspartame	Hembra
20	Mezcla ace:asp	Macho	83	Mezcla ace:asp	Hembra
21	Control Teklad	Macho	61	Control Teklad	Macho
22	Control AIN93 ¹⁵	Macho	62	Stevia	Macho
42	Sucralosa	Hembra	63	Acesulfame	Macho
43	Sucralosa	Hembra	84	Control Teklad	Hembra
23	Fructosa	Macho	85	Control Teklad	Hembra
24	Mezcla ace:asp	Macho	86	Glucosa	Hembra
44	Sucralosa	Hembra	87	Aspartame	Hembra
25	Stevia	Macho	88	Control Teklad	Hembra

A continuación, en la Tabla 3.2 se enlista resumidamente la distribución y relación total de los roedores en los estantes (*racks* en inglés) del bloque uno.

Tabla 3.2 Resumen de la distribución de los especímenes del primer bloque y sus tratamientos

Tratamiento	Machos	Hembras	Total
Fructosa	2	2	4
Sacarosa	6	4	10
Glucosa	4	5	9
Sucralosa	4	3	7
Sacarina	4	5	9
Stevia	5	3	8
Aspartame	0	3	3
Acesulfame	6	5	11
Mezcla ace:asp	6	4	10
Control Teklad	4	5	9
Control AIN93M	3	5	8
Total	44	44	88

*Se remarcan con **negritas** los especímenes tomados en cuenta para esta investigación

misma dieta, Teklad Global *ad libitum*, que los grupos de animales modelo que ingerían además los edulcorantes hipocalóricos en estudio disueltos en el agua purificada incluida en los bebederos

Siguiendo el mismo patrón de organización ya mencionado, se presenta el orden aleatorio de los roedores para el segundo bloque experimental en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3 Aleatorización de los roedores del segundo bloque de 44 hembras y 44 machos

ID	Tratamiento	Sexo	ID	Tratamiento	Sexo
111	Sucralosa	Hembra	155	Stevia	Hembra
112	Mezcla ace:asp	Hembra	133	Glucosa	Macho
113	Aspartame	Hembra	156	Sucralosa	Hembra
89	Sacarina	Macho	157	Control Teklad	Hembra
90	Stevia	Macho	134	Sacarina	Macho
91	Glucosa	Macho	158	Sacarina	Hembra
114	Glucosa	Hembra	159	Fructosa	Hembra
115	Mezcla ace:asp	Hembra	135	Glucosa	Macho
92	Sacarina	Macho	136	Sucralosa	Macho
116	Fructosa	Hembra	137	Aspartame	Macho
93	Control Teklad	Macho	138	Aspartame	Macho
117	Acesulfame	Hembra	139	Mezcla ace:asp	Macho
94	Control Teklad	Macho	160	Sucralosa	Hembra
118	Mezcla ace:asp	Hembra	161	Sacarosa	Hembra
119	Sacarosa	Hembra	162	Fructosa	Hembra
120	Fructosa	Hembra	163	Mezcla ace:asp	Hembra
95	Stevia	Macho	140	Aspartame	Macho
96	Control AIN93M	Macho	164	Aspartame	Hembra
121	Aspartame	Hembra	141	Sucralosa	Macho
97	Stevia	Macho	165	Control AIN93M	Hembra
122	Stevia	Hembra	142	Control AIN93M	Macho
123	Control AIN93M	Hembra	166	Fructosa	Hembra
124	Control Teklad	Hembra	167	Acesulfame	Hembra
125	Stevia	Hembra	168	Sucralosa	Hembra
98	Glucosa	Macho	143	Control Teklad	Macho
126	Glucosa	Hembra	144	Acesulfame	Macho
99	Aspartame	Macho	145	Fructosa	Macho
127	Glucosa	Hembra	146	Acesulfame	Macho
128	Control Teklad	Hembra	147	Aspartame	Macho
100	Control Teklad	Macho	169	Acesulfame	Hembra
101	Sacarosa	Macho	170	Aspartame	Hembra
129	Control AIN93M	Hembra	171	Stevia	Hembra
102	Control AIN93M	Macho	148	Sacarina	Macho
103	Mezcla ace:asp	Macho	149	Fructosa	Macho
130	Sacarina	Hembra	150	Sucralosa	Macho
104	Fructosa	Macho	172	Sacarina	Hembra
105	Control AIN93M	Macho	151	Aspartame	Macho
106	Sucralosa	Macho	173	Fructosa	Hembra
107	Fructosa	Macho	174	Aspartame	Hembra
131	Sacarosa	Hembra	175	Stevia	Hembra
132	Sucralosa	Hembra	152	Fructosa	Macho
108	Aspartame	Macho	153	Control AIN93M	Macho
109	Fructosa	Macho	176	Sacarosa	Hembra
110	Aspartame	Macho	154	Sacarosa	Macho

El resumen de la distribución y la relación de los roedores del bloque número dos del experimento, se enlistan en la Tabla 3.4, donde se remarcan los especímenes tomados en cuenta para esta fase del trabajo experimental.

Tabla 3.4 Resumen de la distribución de los especímenes del segundo bloque y sus tratamientos

Tratamiento	Machos	Hembras	Total
Fructosa	6	6	12
Sacarosa	2	4	6
Glucosa	4	3	7
Sucralosa	4	5	9
Sacarina	4	3	7
Stevia	3	4	8
Aspartame	8	5	13
Acesulfame	2	3	5
Mezcla ace:asp	2	4	6
Control Teklad	4	3	7
Control AIN93M	5	3	8
Total	44	44	88

Como se indicó anteriormente, en total se emplearon 176 especímenes, 88 machos y 88 hembras, distribuidos en 11 grupos con una n=8.

Para fines de este estudio, en donde se manejaron los edulcorantes hipocalóricos, únicamente fueron tomados en cuenta los tratamientos de la Tabla 3.5 y exclusivamente un control el cual consumió el alimento Teklad Global al igual que los otros grupos y bebió agua potable durante todo el experimento.

Tabla 3.5 Resumen de todos los especímenes empleados en este trabajo y sus tratamientos

Tratamiento	Machos	Hembras	Total
Sucralosa	8	8	16
Sacarina	8	8	16
<i>Stevia</i>	8	8	16
Aspartame	8	8	16
Acesulfame	8	8	16
Mezcla ace K:asp	8	8	16
Control	8	8	16
Total	56	56	112

Con la fotografía de la Figura 3.6 se ilustra el acomodo aleatorio de las cajas con los roedores en los estantes (*racks*).



Figura 3.6 Distribución aleatoria de las cajas en el estante número uno

3.4 Dieta suministrada

La dieta empleada para alimentar a todos los especímenes a lo largo del experimento fue proporcionada por la UNEXA. La presentación del alimento *Teklad Global 18% Protein Rodent Diet (Sterilizable) 2018S* es en forma de *pellets*¹⁶ o gránulos, es una fórmula fija fabricada con ingredientes de alta calidad y diseñado para apoyar la gestación, la lactancia y el crecimiento de los roedores.

La dieta no contiene alfalfa, reduciendo así la ocurrencia de fitoestrógenos naturales. Además, su exclusión reduce la clorofila, lo que mejora la claridad visual. La ausencia de proteína animal y harina de pescado reduce al mínimo la presencia de nitrosaminas. La dieta 2018S se complementa con vitaminas adicionales para asegurar la adecuación nutricional después de la esterilización en autoclave

¹⁶ *Pellets* se traduce al español como gránulos. La palabra *pellet* viene del latín *pila*. Es generalmente una masa redondeada, esférica o cilíndrica usada como alimento o medicamento. Las aves de presa regurgitan huesos y piel de los animales que consumen en forma de gránulos o *pellets*

(Envigo, 2015). En la Tabla 3.6 se muestra el porcentaje de macronutrientes. Consultar especificaciones en Anexo 3.

Los ingredientes que componen la dieta son: trigo molido, maíz molido, harina de soya descascarillada, harina de gluten de maíz, aceite de soya, carbonato de calcio, difosfato de calcio¹⁷, levadura de cerveza seca, sal yodada, lisina, DL-metionina, cloruro de colina, caolín, bisulfito de sodio de menadiona compleja (fuente de actividad de la vitamina K), óxido de magnesio, acetato de vitamina E, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, óxido manganoso, niacina, ferroso sulfato, óxido de zinc, riboflavina, vitamina A de hidrocloreto de etilo, piridoxina, sulfato de cobre, suplemento de vitamina B12, ácido fólico, yodato de calcio, biotina, suplemento de la vitamina D3, carbonato de cobalto (Envigo, 2015).



Figura 3.7 Pesaje de alimento diario

Tabla 3.6 Porcentajes de macronutrientes en la dieta *Teklad Global 18% Protein Rodent Diet (Sterilizable) 2018S* (Envigo, 2015)

Macronutriente	Porcentaje (%)
Proteína cruda	18.6
Grasa	6.2
Hidratos de carbono	44.2
Fibra	18.2
Cenizas	5.3
Densidad energética	3.1 kcal/g (13.0 kJ/g)

¹⁷ En la etiqueta aparece fosfato dicálcico, un nombre erróneo desde el punto de vista químico ya que el calcio no puede ser calzoso y los fosfatos dependiendo del número de hidrógenos son mono, di o trifosfatos. En esta tesis no se usarán las palabras sódico, cálcico, etc., a todas luces erróneas (nota de la asesora)

Diariamente, los roedores recibieron 100 gramos de la dieta en *pellets* o gránulos. Todas las mañanas se cuantificó por diferencia la ingesta de alimento y con ello se realizó el rellenado de la dieta en sus respectivos comederos para completar nuevamente los 100 gramos por roedor por día.

3.5 Concentraciones de las bebidas utilizadas en esta investigación

Las bebidas se prepararon diariamente previamente al ingreso a la sala de experimentación. Para preparar las soluciones se pesaron los reactivos en una balanza analítica y, posteriormente, se disolvieron en agua purificada y se aforaron en matraces volumétricos. Las Figuras 3.8 a 3.10 ejemplifican el proceso.

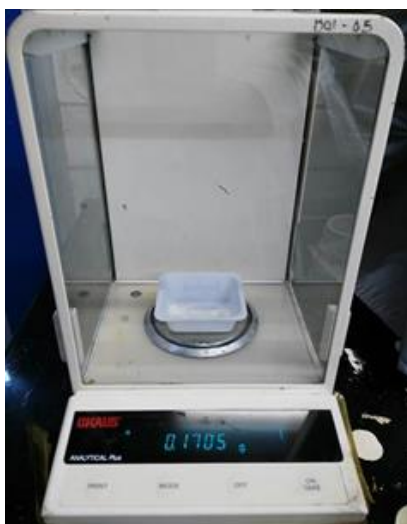


Figura 3.8 Pesaje de sucralosa pura para preparar un litro de solución

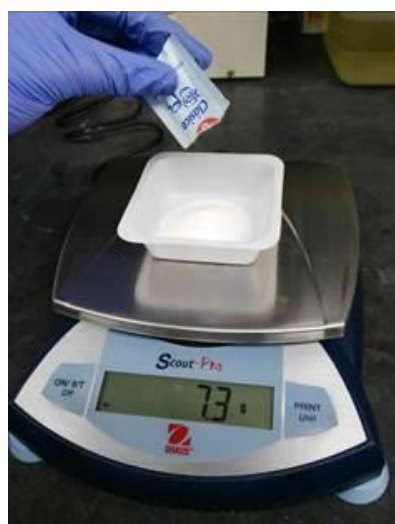


Figura 3.9 Pesaje de la mezcla comercial acesulfame K:aspartame



Figura 3.10 Aforo de las soluciones

Las concentraciones de las soluciones se establecieron según su poder edulcorante, por lo que se tomó a la sacarosa como la unidad (1) y ésta a su vez se equiparó a un aproximado de las concentraciones de las bebidas no alcohólicas endulzadas que actualmente se venden en el mercado. Algunas de éstas contienen alrededor de un 10% de sacarosa o glúcidos, generalmente mieles fructosadas de maíz, comercializados como “azúcares”. Por ejemplo, para preparar un litro de

solución de sacarosa al 10% se requiere de 100 g de azúcar; para preparar un litro de solución de acesulfame de potasio al 0.05% son necesarios 0.5 gramos, es decir, $100/0.5=200$, lo que corresponde coherentemente a la teoría donde se indica que el acesulfame de potasio es 200 veces más dulce que la sacarosa. A continuación, en la Tabla 3.7 se enlistan las características de cada solución.

Tabla 3.7 Concentraciones de los edulcorantes evaluados y su presentación

Edulcorante	Concentración	Especificación
1.-Aspartame	0.3%	Marca comercial Equal®
2.-Acesulfame K	0.05%	Compuesto puro Sigma-Aldrich®
3.-Aspartame:Acesulfame K	1.55%	Marca comercial CandereI® Clásico
4.-Sacarina	0.033%	Compuesto puro Sigma-Aldrich®
5.-Sucralosa	0.017%	Compuesto puro Sigma-Aldrich®
6.- <i>Stevia</i>	0.94%	Infusión de hojas secas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni

La preparación de la infusión con las hojas secas de la planta de *stevia* se llevó a cabo como se muestra en la Figura 3.11.

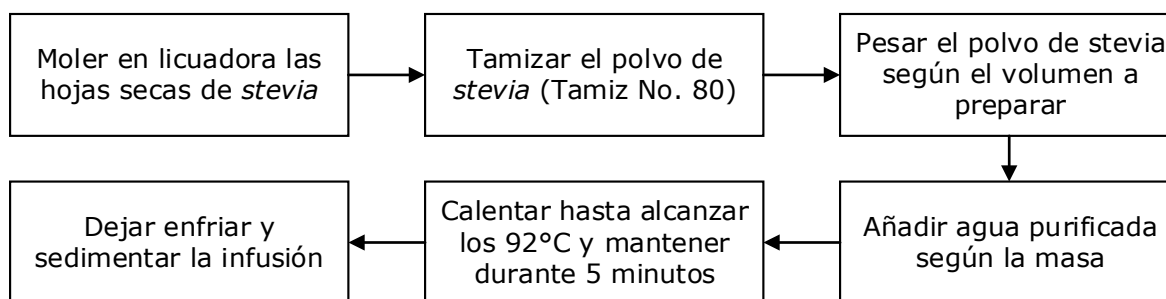


Figura 3.11 Metodología para preparación de la infusión de *stevia*

Diariamente, se cuantificó el consumo de la solución con ayuda de una probeta, el remanente se desechó para evitar una posible contaminación o descomposición. Posteriormente, los bebederos se enjuagaron y se rellenaron con soluciones recién elaboradas. Además, cada semana, los bebederos se esterilizaron, y los tapones junto con las boquillas se lavaron perfectamente con la misma frecuencia.



Figura 3.12
Medición de las
soluciones



Figura 3.13 Bebederos listos para ser colocados en cada
jaula

3.6 Registro de masa corporal, cantidad de alimento ingerido y cantidad de bebida consumida

El registro de masa corporal junto con los valores obtenidos de la ingesta de alimento y el consumo de bebida, se registraron diariamente en la bitácora previamente diseñada para este fin. Posteriormente, los datos se transcribieron a un archivo electrónico tipo hoja de cálculo de Excel (Anexo 8 y disco compacto con los datos individuales). En seguida, en la Figura 3.14 se muestra cómo los roedores se colocaron en la balanza para cuantificar el incremento diario de masa corporal.

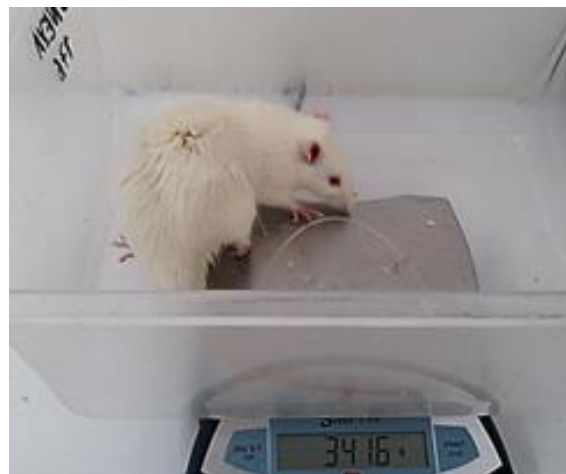


Figura 3.14 Pesado diario de cada espécimen

3.7 Análisis estadístico y justificación

Los datos experimentales obtenidos diariamente se transcribieron de la bitácora física a una hoja de datos digital elaborada en la plataforma Excel. Estos datos, a su vez, se organizaron en una hoja de cálculo resumida. Con este compendio de información se realizaron todos los tratamientos estadísticos a través de los *softwares* especializados Statgraphics Centurion XV y Minitab 17. De igual manera, con este compendio de datos se realizaron las gráficas de incremento acumulado de masa corporal, alimento ingerido, bebida consumida y las propias para cada uno de los análisis de varianza (*ANOVA* en inglés) realizados, con ayuda del programa estadístico GraphPad Prism 6.

Para el análisis de los incrementos y consumos mencionados se realizaron los análisis de varianza (*ANOVA*) correspondientes. Para que este *test* paramétrico se pueda llevar a cabo correctamente se supone que:

- ✓ Los datos deben seguir distribuciones normales dentro de cada categoría, entendiendo por categorías todas las que se forman del cruce de todos los niveles de todos los factores.
- ✓ Todas las distribuciones normales deben tener igualdad de varianzas (homocedasticidad) (Sánchez-Alberca, 2014).

Por ello, los tratamientos estadísticos que se llevaron a cabo para cada set de datos (incremento en masa corporal, ingesta de alimento y consumo de bebida) en este trabajo fueron:

1. Identificación de datos atípicos o aberrantes por estimación de sigma basada en la desviación absoluta de la mediana, *MAD* en inglés (Statgraphics Centurion XV).
2. Comprobación de la normalidad a través de las pruebas de asimetría y curtosis (Statgraphics Centurion XV).
3. Verificación de homocedasticidad a través del *test* de Levene (Minitab).
4. Análisis de variación (*ANOVA*) (Statgraphics Centurion XV).
5. Prueba de rangos múltiples *post hoc* por el *test* de Duncan (Statgraphics Centurion XV).

En relación con las pruebas listadas, se optó como método de detección de valores atípicos la desviación absoluta de la mediana (*MAD*), debido a que la mediana como medida de dispersión es la más robusta en la presencia de valores extremos (Leys *et al.*, 2013); pues es aún menos afectada por los extremos en la cola debido a que éstos tiene menor influencia sobre el cálculo de la mediana que sobre el cálculo de la media. Además de ello, el método de *MAD* no se ve afectado por el tamaño de muestra. Se consideraron datos aberrantes cuyos valores de *MAD* sean superiores de +3.0 o inferiores a -3.0 (Filliben, 2013).

Los procedimientos estadísticos como el análisis de la varianza son aplicables si los datos provienen de distribuciones normales. Por ello, antes de su realización conviene comprobar si se cumple la hipótesis de normalidad (Sánchez-Alberca, 2014). Inicialmente, se comprueba gráficamente observando si los datos provienen de una distribución normal. Los puntos deberán quedar aproximadamente a lo largo de una línea recta y si los puntos muestran una curvatura significativa, puede ser una indicación de sesgo en los datos (Statgraphics, 2005). Sin embargo, una manera más formal para comprobar la normalidad es mirar las pruebas de asimetría y curtosis. La asimetría de una distribución normal es igual a cero; por lo tanto, los datos simétricos deben tener una asimetría cercana a cero. Los valores negativos para la asimetría indican los datos que son valores sesgados hacia la izquierda y, valores positivos indican que los datos tienen una tendencia hacia la derecha; es decir que la cola izquierda o derecha es más larga en relación con la otra (Filliben, 2013). La prueba de curtosis estandarizada busca si la forma de la distribución es más plana o picuda que la distribución normal. Si al realizar las pruebas de estos valores están fuera del intervalo -2 y +2 indican un incumplimiento significativo de la normalidad estadística (Statgraphics, 2005).

Para la verificación de la homocedasticidad u homogeneidad de varianzas se puede utilizar la distribución F de Fisher para comprobar la homogeneidad de varianzas de dos poblaciones. Tiene el problema de que exige la normalidad de los datos y, además, está limitado a la comparación de dos varianzas. Por lo tanto, es más conveniente el test no paramétrico de Levene pues permite realizar el contraste de

homogeneidad de varianzas sin suponer la normalidad de los datos y, además, admite el contraste de homogeneidad de varianzas entre más de dos muestras (Sánchez-Alberca, 2014). A los datos que no cumplieron el supuesto de la homocedasticidad se realizó el procedimiento de Welch, ya que es una alternativa al análisis de varianza (ANOVA) tradicional de una vía, pues no requiere que las varianzas de las poblaciones sean iguales (Koh y Cribbie, 2013).

Para las comparaciones múltiples posteriores al análisis de varianza (ANOVA), se eligió el método de Duncan analizando y descartando los *test* de comparaciones múltiples más comunes. El *test* Fisher, diferencia mínima significativa o método *LSD*, por sus siglas en inglés, es excesivamente liberal por lo que es muy probable encontrar una diferencia. El método de Scheffé es demasiado conservador. En general, el *test* de Tukey HSD y el método de Neuman-Keuls están en algún lugar en medio, aunque la prueba Neuman-Keuls es un poco menos conservadora. Parecería que, actualmente, la mayoría está optando por la prueba Neuman-Keuls para hacer comparaciones por pares (Norman y Streiner, 2014). Sin embargo, se optó por la prueba de rango múltiple de Duncan, pues es muy similar al método de SNK (Neuman-Keuls), pero es menos conservador que éste. Además, la prueba de Duncan no requiere el mismo número de repeticiones (n) en cada grupo de tratamiento, mientras que el método de Neuman-Keuls sí (Hilton y Armstrong, 2006). Esto último es una condición relevante pues en la identificación de datos atípicos se suprimen aquellos que arrojen un resultado positivo.

Finalmente, con el objetivo de complementar los análisis estadísticos, se realizaron correlaciones entre las variables. En el mundo real puede observarse que ciertas variables parecen estar relacionadas. Por ejemplo, el color del cabello y el de los ojos tienden a estar relacionados, una no necesariamente causa la otra, pero tienden a producirse al unísono. La fuerza de la correlación se expresa con un número llamado coeficiente de correlación de Pearson, que puede variar de -1 a 1. Mientras más sólida sea la relación más cercana estará a estos valores (Dawson, 2009).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentarán los datos y los resultados obtenidos del ensayo biológico donde se emplearon 112 roedores de la cepa *Wistar*, 56 ratas macho y 56 ratas hembra recién destetados durante 120 días. Los especímenes consumieron su respectivo edulcorante artificial en la bebida *ad libitum* y se alimentaron con la dieta Teklad Global con 18% de proteína sin horario restringido. Dentro de los 112 roedores se incluye el grupo control el cual consumió la misma dieta que todos los grupos y bebió únicamente agua potable durante todo el experimento también *ad libitum*. Como se mencionó antes, los otros grupos no fueron considerados en esta investigación (64 especímenes).

Se analizó el incremento acumulado de masa corporal, el consumo acumulado de bebida y la ingesta acumulada de alimento tras los 120 días. En cada punto se encontrará la información ordenada de la siguiente manera:

- Una tabla donde se enlistan las observaciones por grupo, promedios y las desviaciones estándar con los que se elaboró el análisis estadístico ANOVA
- La tabla de ANOVA que directamente arroja el programa estadístico *Statgraphics Centurion XV*, junto con su correspondiente gráfica.
- Gráficos que describen las tendencias a lo largo de los 120 días realizados en forma individual y con el promedio de cada grupo.
- Si es el caso, una tabla de las comparaciones múltiples *post hoc*.

Al finalizar los análisis, se encontrará la información correspondiente a la ingesta diaria de edulcorante (IDE) y, junto con los resultados de la ingesta de alimento, también se analiza la energía acumulada en kilojoules a lo largo del bioensayo. En el apartado de los Anexos se encuentran los datos promediados de cada día, del día 1 hasta el día 120. En un disco compacto se encuentran los datos individuales organizados por grupo de edulcorante y sexo. Ahí se enlistan los valores de los 3 puntos a analizar: aumento de masa corporal e incremento acumulado de la misma; ingesta de alimento diario y su respectivo acumulado a través de los 120 días de experimentación y la bebida consumida diariamente, así como su acumulado a lo

largo del experimento (Anexo 8). Para este capítulo se utilizarán las abreviaturas siguientes:

Acesulfame de potasio (ACE K)	Aspartame (ASP)
Control de agua potable (CONTROL)	Sucralosa (SUCR)
Infusión de hojas de estevia (STEVIA)	Sacarina (SACH)
Mezcla comercial de acesulfame K:aspartame (MEZCLA)	

4.1 Incremento de masa corporal

El incremento acumulado de masa corporal es la ganancia obtenida en masa al concluir los 120 días, el valor final se obtiene sumando diariamente los gramos adquiridos en la masa corporal de cada espécimen.

4.1.1 Análisis estadístico

A continuación, en la Tabla 4.1, se presenta el promedio y la desviación estándar de cada grupo de edulcorante por sexo y el incremento acumulado de masa corporal hasta el día 120. Como información previa a estos datos, en el Anexo 4, se encuentran las Tablas y las Gráficas de la verificación de la normalidad e identificación de atípicos de los valores acumulados al día 120. Por otro lado, en el Anexo 5 se tiene la verificación de varianza de los datos. Para realizar el análisis estadístico se empleó el valor acumulado que se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1 Observaciones, promedio y desviación estándar por grupo y sexo del incremento acumulado de la masa corporal de los especímenes hasta el día 120

Edulcorante	n	\bar{x} machos (g)	SD (g)	n	\bar{x} hembras (g)	SD (g)
ACE K	8	350.3	± 29.9	7	<u>170.6</u>	± 5.4
ASP	6	324.8	± 6.5	8	170.3	± 18.3
MEZCLA	8	353.9	± 30.2	8	166.0	± 20.5
SACH	7	<u>343.4</u>	± 29.2	8	171.7	± 20.4
SUCR	8	357.6	± 33.5	8	166.3	± 19.4
STEVIA	7	<u>357.5</u>	± 30.1	8	168.2	± 14.6
CONTROL	8	355.9	± 25.3	6	185.1	± 11.1

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

SD, desviación estándar por sus siglas en inglés; \bar{X} promedio

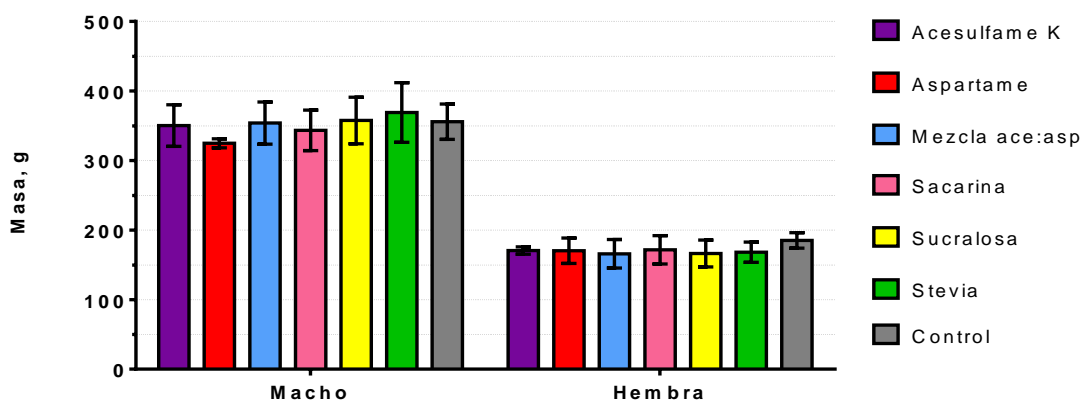
En el análisis de varianza de la Tabla 4.2, se emplearon los datos listados en la Tabla 4.1. La variable dependiente es el incremento acumulado de masa corporal y los factores fueron el edulcorante y el sexo.

Tabla 4.2 Análisis de varianza para incremento acumulado de masa corporal - Suma de cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Edulcorante	3924.09	6	654.015	1.22	0.3044
B:Sexo	821737.0	1	821737.0	1530.24	0.0000
INTERACCIONES					
AB	3795.29	6	632.548	1.18	0.3251
RESIDUOS	48866.9	91	536.999		
TOTAL (CORREGIDO)	899532.0	104			

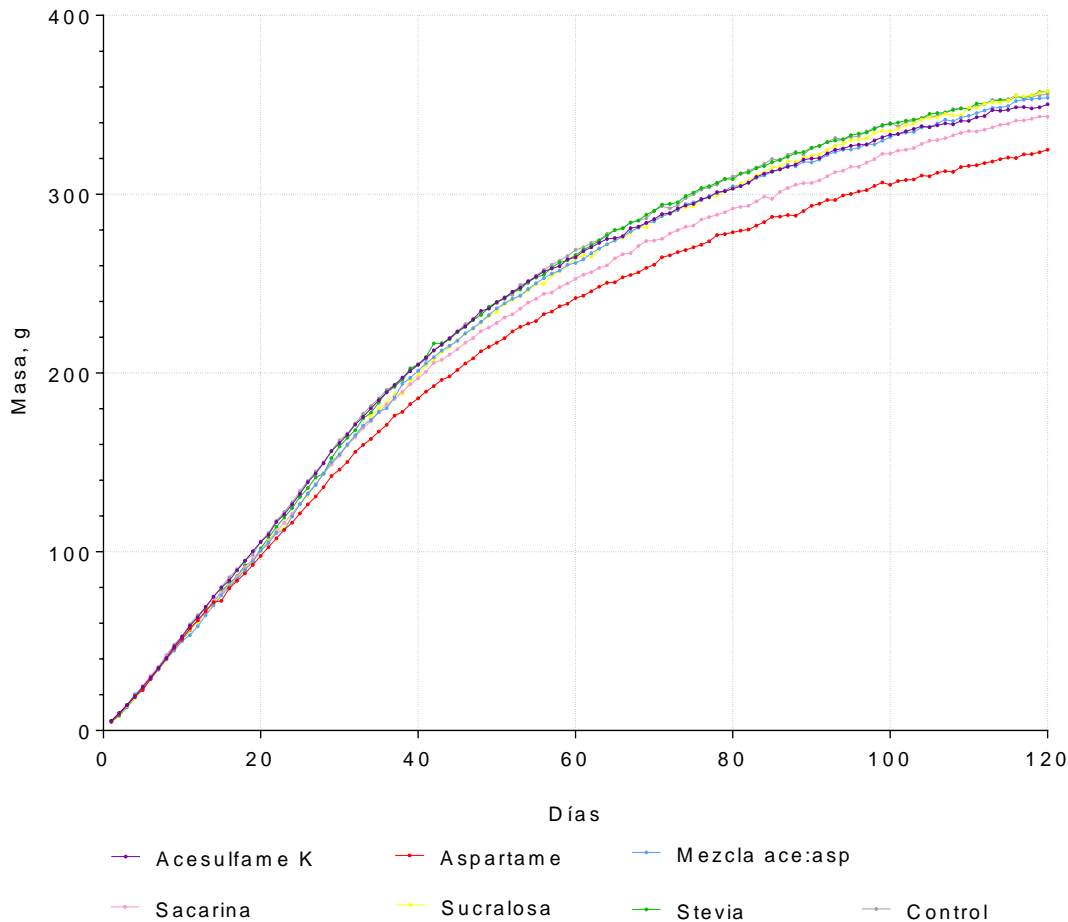
Gl, grados de libertad

El resultado del análisis de varianza indica que después de 120 días de que los roedores consumieron edulcorantes artificiales, únicamente hubo diferencia en el incremento acumulado de masa corporal en cuanto al sexo del espécimen, pues el Valor-P fue menor a 0.05. Como se puede apreciar en la Gráfica 4.1 todos los edulcorantes artificiales originaron una ganancia de masa corporal muy similar entre ellos. En el caso de las hembras el aumento acumulado de masa corporal no superó los 200 gramos, mientras que en los machos el aumento no fue mayor a los 400 gramos.



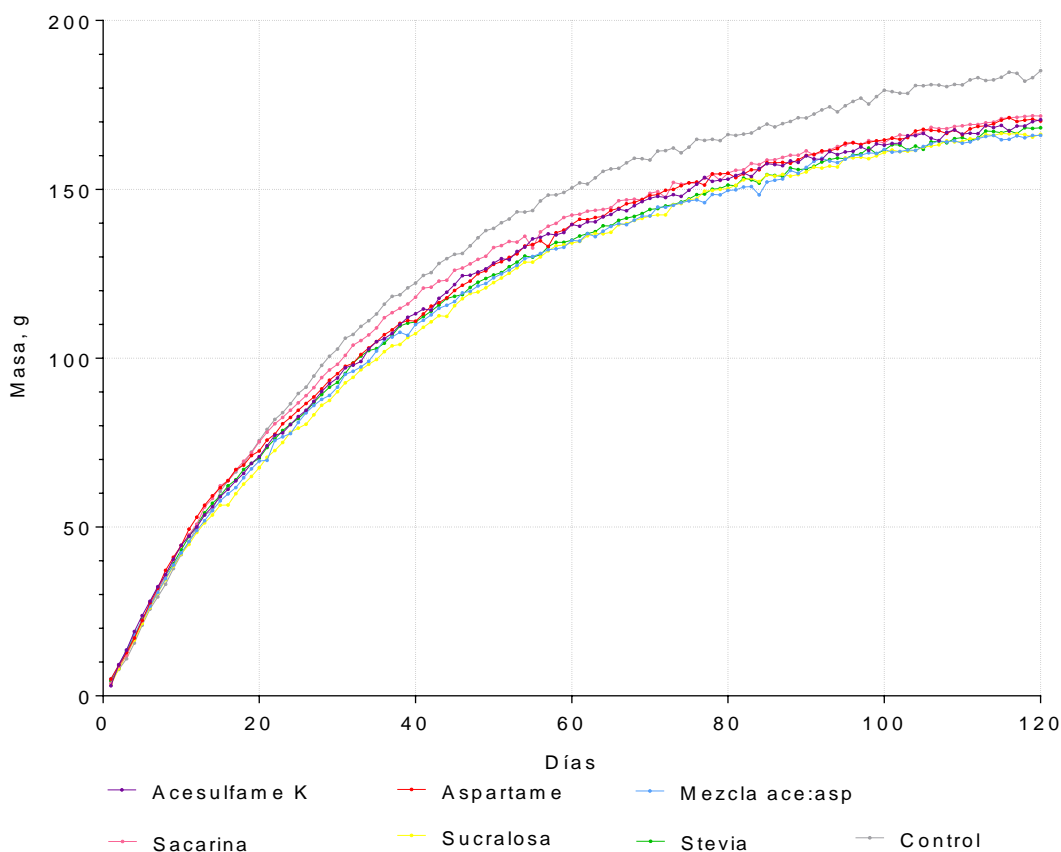
Gráfica 4.1 Media por mínimos cuadrados¹⁸ y desviación estándar del incremento acumulado de ratas hembra y macho al día 120

En las Gráficas 4.2 y 4.3 se exponen las tendencias de crecimiento de los especímenes macho y hembra. Cabe aclarar que todos los gráficos que describen los comportamientos de crecimiento y consumo se realizaron con el promedio de cada grupo sin incluir los datos aberrantes. En los gráficos siguientes, si se divide el total de los 120 días en 3 periodos de 40 días cada uno, se puede observar que, en el primer periodo, que abarca del día 1 al día 40, el acumulado del incremento de la masa corporal fue de aproximadamente 200 gramos en las ratas machos. En el segundo periodo se observa que el incremento acumulado se reduce a la mitad, cercano a unos 100 gramos y en el tercero se reduce a una cuarta parte en comparación con el primer periodo, alrededor de 50 gramos.



Gráfica 4.2 Incremento acumulado de masa corporal de roedores macho hasta el día 120

En cuanto a la tendencia de crecimiento de las hembras, el acumulado del incremento de la masa corporal fue similar, pues en el primer periodo se observó un aumento ligeramente mayor a los 100 g. En el segundo periodo, igual que en el caso de los roedores macho, se reduce a la mitad y en el tercero, se reduce a una cuarta parte en comparación con el primer periodo.



Gráfica 4.3 Incremento acumulado de masa corporal de roedores hembra hasta el día 120

La diferencia encontrada estadísticamente entre el sexo de los roedores es propia de la especie. En el Anexo 1, se encuentra la gráfica que describe la curva de crecimiento normal de ratas macho y hembra proporcionada por ENVIGO®.

4.2 Volumen de bebida consumida

La bebida consumida es la suma diaria de los mililitros bebidos hasta concluir los 120 días de experimentación.

4.2.1 Análisis estadístico

En la Tabla 4.3, se presenta el promedio y la desviación estándar por cada grupo de edulcorante y sexo del consumo acumulado de bebida hasta el día 120. En el apartado de anexos se encuentran las tablas de la identificación de atípicos, verificación de normalidad y la verificación de la homocedasticidad de los valores acumulados al día 120 (Anexo 5).

Tabla 4.3 Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de bebida al día 120

Edulcorante	n	\bar{x} machos (mL)	SD (mL)	n	\bar{x} hembras (mL)	SD (mL)
ACE K	8	4984.1	± 1070.7	8	6303.1	± 1246.9
ASP	8	3727.5	± 377.1	8	4051.9	± 1507.5
MEZCLA	8	5090.5	± 858.0	7	<u>6093.7</u>	± 1730.0
SACH	6	<u>4422.5</u>	± 217.0	7	<u>4310.1</u>	± 553.9
SUCR	8	4370.1	± 822.2	8	3963.6	± 956.6
STEVIA	6	<u>4647.3</u>	± 344.6	8	5237.0	± 1426.8
CONTROL	8	4316.4	± 873.8	8	3331.8	± 593.5

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)
SD, desviación estándar por sus siglas en inglés; \bar{x} , promedio

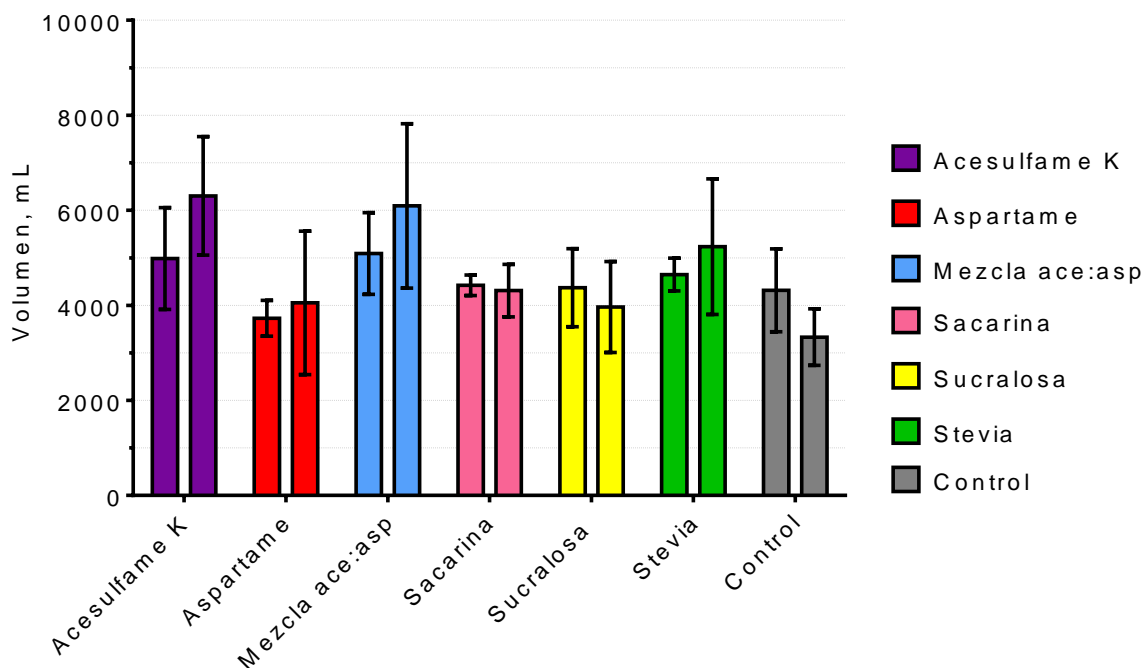
Con el objetivo de encontrar diferencias entre los factores, edulcorante y sexo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) donde se emplearon los valores acumulados de la tabla anterior. Los resultados de este análisis estadístico se exponen en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Análisis de varianza para consumo acumulado de bebida con edulcorante - Suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Edulcorante	5.50857E7	6	9.18096E6	8.91	0.0000
B:Sexo	1.60644E6	1	1.60644E6	1.56	0.2150
INTERACCIONES					
AB	1.53509E7	6	2.55848E6	2.48	0.0285
RESIDUOS	9.47917E7	92	1.03034E6		
TOTAL (CORREGIDO)	1.66358E8	105			

Gl, grado de libertad

En el análisis de varianza (ANOVA) de la Tabla 4.4 se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los edulcorantes suministrados debido a que el valor P fue menor a 0.05; sin embargo, no hubo tal diferencia en cuanto al sexo. En la Gráfica 4.4 se aprecian los promedios de consumo en ambos sexos, así como su desviación estándar.



Gráfica 4.4 Media por mínimos cuadrados¹⁸ y desviación estándar del consumo acumulado de bebidas en ratas hembra y macho a lo largo del periodo de experimentación (120 días)

Con la finalidad de averiguar qué edulcorantes resultaron diferentes en cuanto a su consumo, en machos y hembras, se realizaron las comparaciones múltiples *post hoc*. Se ejecutaron por el método de Duncan con un 95% de confianza. En la Tabla 4.5 se presenta el resultado de las comparaciones múltiples realizadas por el método de Duncan y en el Anexo 6, se encuentran cada una de las determinaciones llevadas a cabo.

¹⁸ La media por mínimos cuadrados ajusta cualquier desbalanceo en los datos, haciendo predicciones a un nivel común para todos los factores (Statgraphics, 2006)

Tabla 4.5 Resultado de las comparaciones múltiples

<i>Edulcorante</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS*</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	16	3824.06	253.765	X
Aspartame	16	3889.69	253.765	X
Sucralosa	16	4166.88	253.765	X
Sacarina	13	<u>4366.32</u>	282.363	X X
<i>Stevia</i>	14	<u>4942.17</u>	274.097	X X
Mezcla ace K:asp	15	<u>5592.11</u>	262.671	X
Acesulfame	16	5643.63	253.765	X

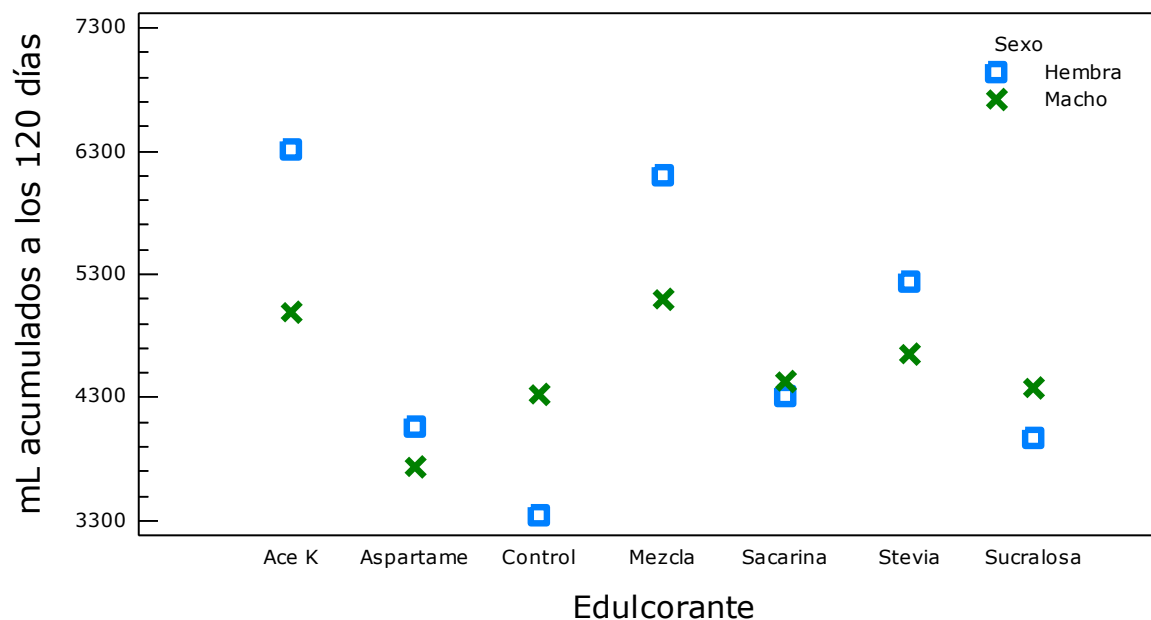
De los 16 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

* Sigma LS: el error estándar estimado de la media de mínimos cuadrados (Statgraphics, 2006)

Con el resultado del análisis estadístico, se determinó que el grupo mayor consumidor de bebida con edulcorante fue el de acesulfame de potasio, seguido de la mezcla comercial acesulfame K:aspartame Canderel®, ambos fueron significativamente distintos a los grupos de sacarina, sucralosa, aspartame y control; siendo este último el grupo con el menor consumo de bebida, en este caso, de agua potable sin edulcorante. Además de los grupos de *stevia* y de sacarina fueron estadísticamente diferentes a los grupos de sucralosa, aspartame y al grupo control.

En la Tabla 4.4, se presentan los resultados del análisis de varianza. Aquí también se observa que a pesar de que no existió diferencia en cuanto al sexo, existe interacción entre los factores, por lo que se realizaron los análisis de varianza (ANOVA) simples por sexo. La interacción entre ellas indica que el comportamiento del consumo de los edulcorantes difirió en cada uno de los sexos.

En la Gráfica 4.5 se observa que únicamente los grupos (macho y hembra) del edulcorante sacarina presentaron la misma conducta de consumo en ambos sexos. Por el contraste, los grupos de acesulfame de potasio y la mezcla comercial acesulfame K:aspartame Canderel® fueron los grupos que tuvieron un comportamiento ante las bebidas con edulcorantes con mayor variación entre los sexos.



Gráfica 4.5 Interacciones del consumo de bebida acumulada al día 120 en hembras y machos

4.2.1.1 Análisis estadístico del consumo de bebida en roedores macho

Con la información presentada anteriormente en la Tabla 4.3, donde se enlistan los valores acumulados al término del bioensayo; se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía para roedores machos. Con el fin de verificar la validez del análisis ANOVA se realizaron las pruebas de normalidad y homocedasticidad (Anexos 4 y 5). El resultado obtenido del *test* de Levene (< 0.05) indicó que las varianzas de los datos fueron heterogéneas, lo que invalida automáticamente el análisis clásico ANOVA. Por ello, se realizó el *test* de Welch pues, a diferencia del anterior, este análisis estadístico soporta la heterogeneidad de varianzas. El resultado de la prueba de Welch se expone en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Test de Welch para consumo acumulado de bebida con edulcorante en ratas macho

Fuente	Gl	Gl Den	Razón-F	Valor-P
Edulcorante	6	19.7245	5.09	0.003

Gl, grados de libertad; Gl Den, corrección aplicada de grados de libertad del Test de Welch que normalmente es: $k * (n-1)$

Dado que el valor P del *test* de Welch (0.003) fue menor a 0.05 indica la existencia de una diferencia significativa entre los grupos de edulcorantes en ratas macho. Con la finalidad de encontrar las diferencias significativas, se realizaron las comparaciones múltiples por el método de Howell-Games, el cual es el indicado al realizarse el *test* de Welch.

Tabla 4.7 Pruebas de rangos múltiples para bebida acumulada en machos - Método: de Howell-Games al 95%

<i>Edulcorante</i>	<i>N</i>	<i>Media LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Mezcla ace:asp	8	5091	A
Acesulfame	8	4984	A B
<i>Stevia</i>	6*	<u>4647</u>	A
Sacarina	6*	<u>4422.5</u>	A
Sucralosa	8	4370	A B
Control	8	4316	A B
Aspartame	8	3728	B

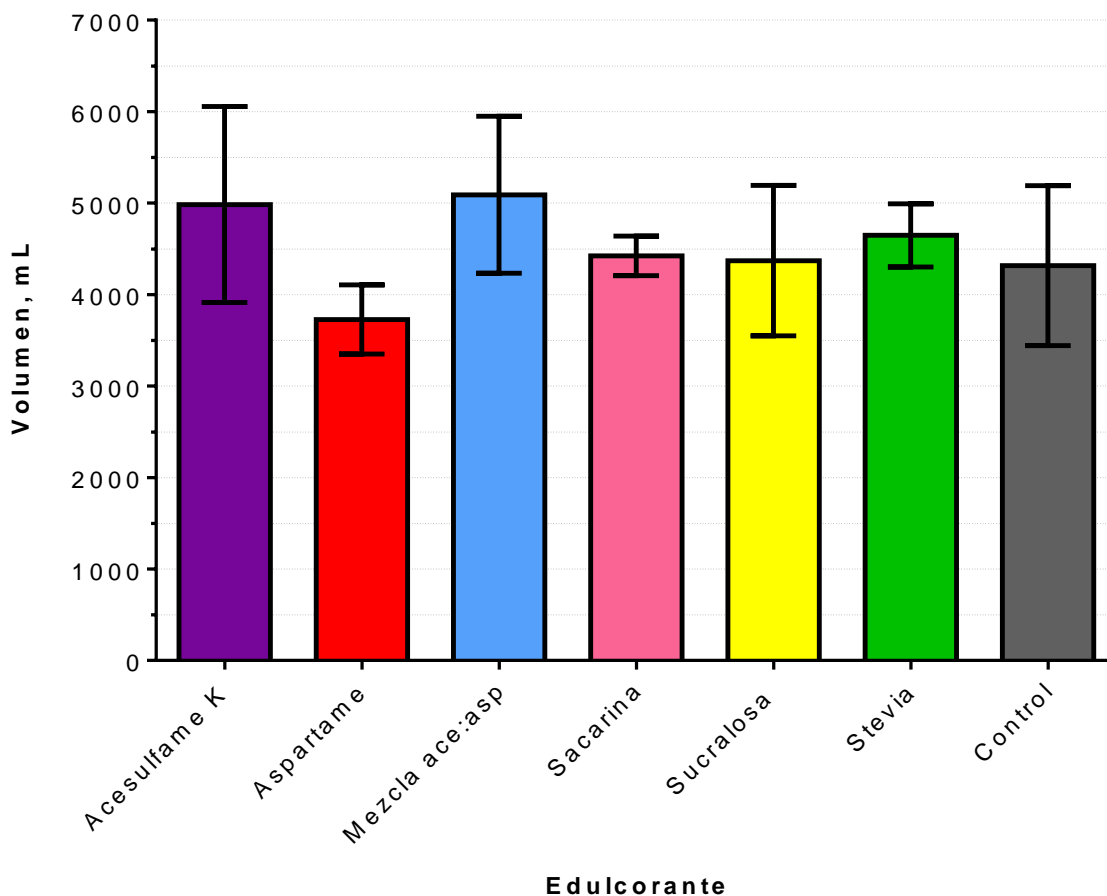
LS = Least square en inglés (media por mínimos cuadrados)

Nota: Medias que no comparten letras son significativamente diferentes

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

De acuerdo con los resultados de la Tabla 4.7, se determinó que los edulcorantes mezcla comercial, acesulfame K:aspartame Canderel®, sacarina de sodio y la infusión de hojas de *stevia* fueron diferentes al aspartame. Siendo el grupo de mezcla comercial el que consumió más mL a lo largo de los 120 días de experimentación, mientras que el grupo de aspartame fue el que menos mL consumió, incluso menos que el grupo control, hallazgo que en la literatura está ya plenamente identificado porque parece no gustar a las ratas (Guzmán-Gómez, 2013; Martínez *et al.*, 2010).

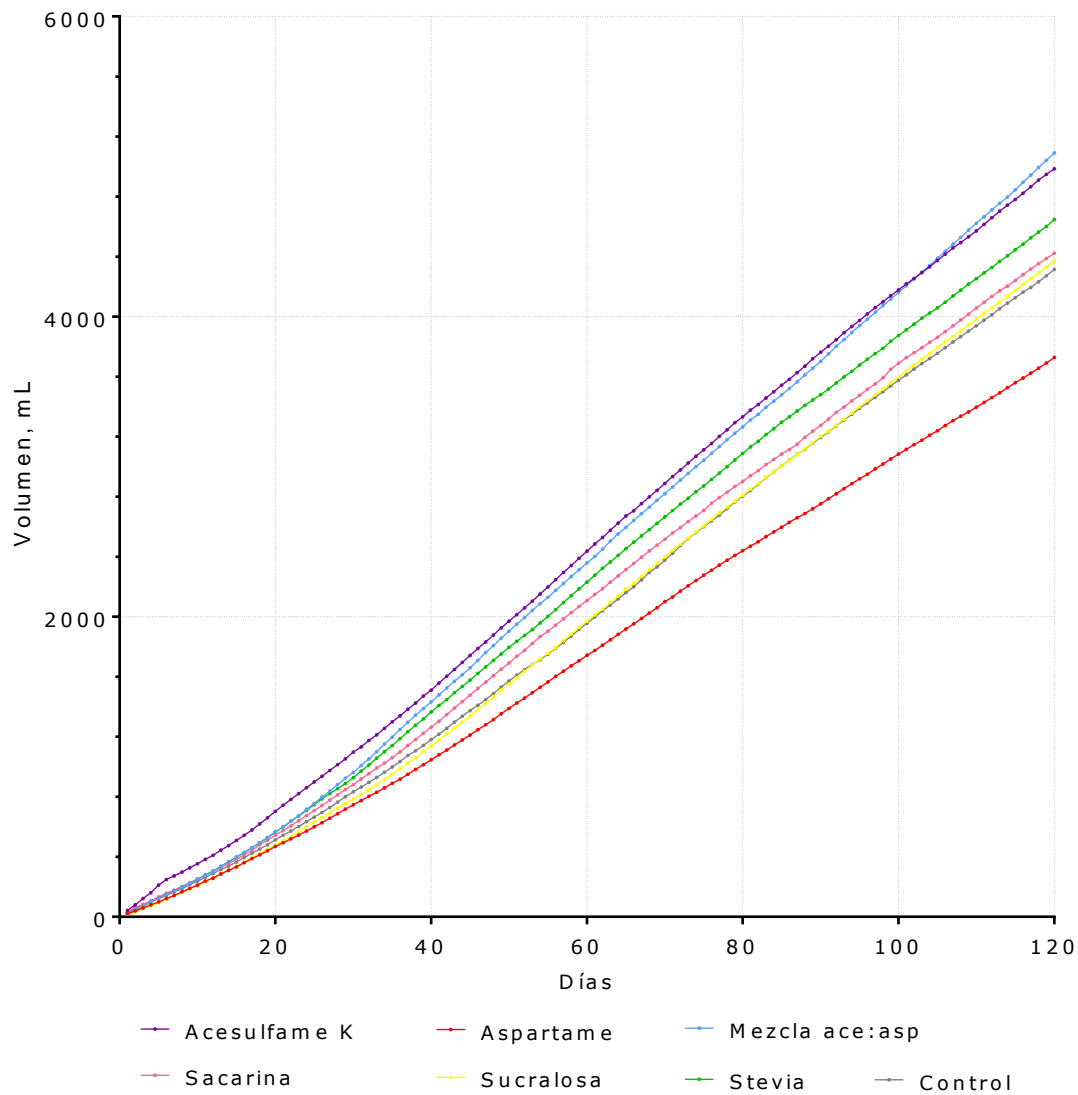
Estas diferencias se aprecian claramente en la Gráfica 4.6. Donde se observa que el grupo de aspartame consumió poco menos de 4000 mL hasta los 120 días del periodo experimental.



Gráfica 4.6 Media por mínimos cuadrados y desviación estándar de la bebida con acumulada en roedores macho hasta el día 120

Finalmente, en la Gráfica 4.7 se describe el comportamiento del consumo de la bebida en ratas machos a lo largo del periodo experimental. Se puede observar una tendencia de los edulcorantes a conglomerarse en tres grandes grupos.

Como primera agrupación, se encuentran los mayores consumidores: el grupo de acesulfame de potasio y la mezcla comercial acesulfame K:aspartame Canderel®; como segundo grupo importante se posiciona el conjunto de infusión de *stevia*, sacarina de sodio, sucralosa y control; y como último grupo: las ratas que bebieron aspartame comercial Equal®, que como ya se mencionó, es un hallazgo ya reportado (Guzmán-Gómez, 2013; Martínez *et al.*, 2010).



Gráfica 4.7 Tendencia del consumo de bebida en ratas macho a lo largo de los 120 días

4.2.1.2 Análisis estadístico del consumo de bebida en roedores hembra

En cuanto a las hembras, la estadística se realizó de manera convencional con un análisis de varianza (ANOVA) pues los datos cumplieron los supuestos necesarios al realizarse las comprobaciones de normalidad y homocedasticidad (Anexos 4 y 5). El resultado del análisis de varianza se muestra en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 Análisis de varianza (ANOVA) simple para consumo acumulado de bebida con edulcorante en ratas hembra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5.12085E7	6	8.53475E6	6.25	0.0001
Intra grupos	6.14459E7	45	1.36546E6		
Total (Corr.)	1.12654E8	51			

Gl, grados de libertad

En relación con el resultado obtenido, se realizaron las comparaciones múltiples con la finalidad de conocer las diferencias entre los edulcorantes, pues el valor p fue menor a 0.05. Para determinar dichas diferencias, se realizó el *test* de Duncan al 95% de confianza. Los resultados de la Tabla 4.9 incluyen el número de casos, la media de ellos y los grupos homogéneos de la prueba *post hoc*; en el apartado de anexos (Anexo 6) se presenta el detalle de las comparaciones.

Tabla 4.9 Resumen de los datos por edulcorante y de las comparaciones múltiples

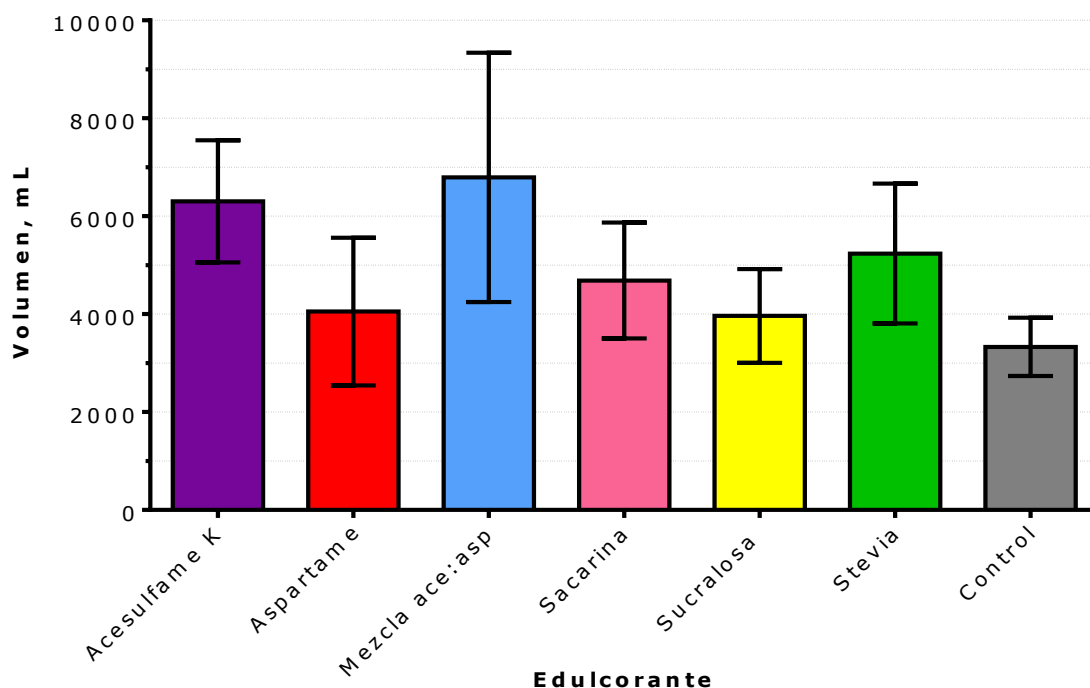
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Control	8	3331.75	X
Sucralosa	8	3963.63	X X
Aspartame	8	4051.88	X X
Sacarina	7	<u>4686.63</u>	X X
<i>Stevia</i>	8	5237.00	X X
Acesulfame	8	6303.13	X
Mezcla ace K:asp	7	<u>6793.63</u>	X

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

LS = *Least square* en inglés (media por mínimos cuadrados)

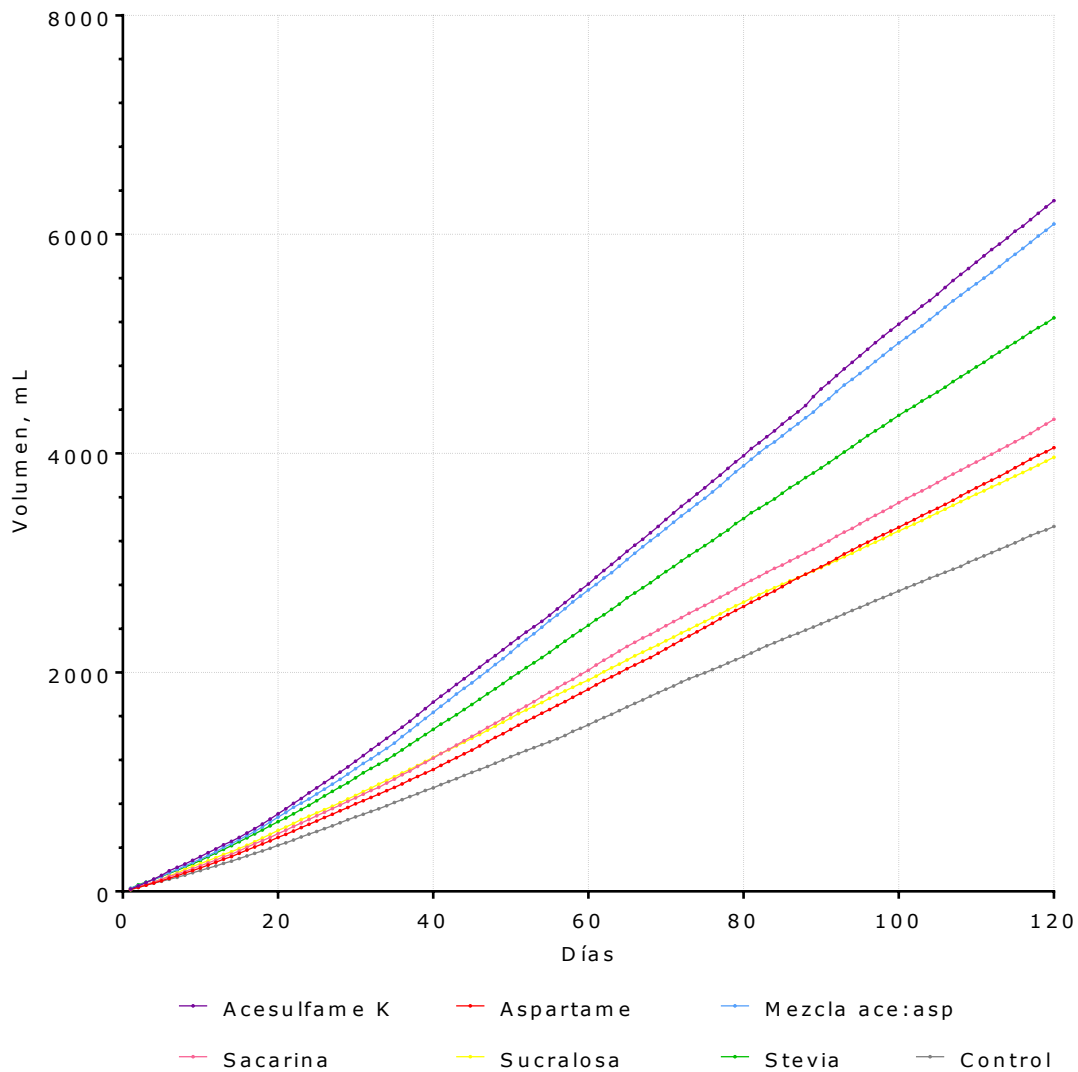
En la Tabla 4.9 se observa que, como resultado, los edulcorantes se organizaron en tres grupos; los cuales fueron: la mezcla comercial de acesulfame K:aspartame CandereI® y acesulfame de potasio que fueron los grupos que consumieron una mayor cantidad de bebida; por ello, resultaron estadísticamente diferentes al resto de los edulcorantes. De la misma manera, el grupo que bebió la infusión de *stevia* resultó significativamente distinto a: sacarina, aspartame, sucralosa y control.

Como se aprecia en la Gráfica 4.8, el grupo control, que tomó agua potable, fue el que tuvo un menor consumo a lo largo del periodo experimental, pues bebieron poco más de 3000 mL; lo cual fue aproximadamente la mitad de lo que tomaron los grupos de acesulfame de potasio y la mezcla comercial Canderel®, lo que llevaría a cuestionar si el acesulfame de potasio modifica tajantemente el comportamiento en cuanto al consumo de la bebida.



Gráfica 4.8 Media por mínimos cuadrados y desviación estándar de la bebida con acumulada en roedores hembra a lo largo del periodo de experimentación (120 días)

Más adelante, el Gráfico 4.9 describe la tendencia del consumo de cada uno de los distintos edulcorantes en ratas hembra a lo largo de los 120 días del bioensayo. Como se mencionó anteriormente se pueden observar agrupamientos por edulcorantes; en orden ascendente, el grupo control fue el menor consumidor de agua; el agrupamiento siguiente incluye los grupos de sucralosa, aspartame y sacarina; siguiendo el grupo de *stevia* y, finalmente, los mayores consumidores de bebida con edulcorante fueron los de acesulfame de potasio y la mezcla comercial acesulfame K:aspartame Canderel®.



Gráfica 4.9 Tendencia del consumo de bebida en ratas hembra a lo largo de los 120 días

4.3 Alimento ingerido y energía acumulada

La cantidad de alimento ingerido se obtuvo con la suma diaria de los gramos de alimento consumido a lo largo de los 120 días de experimentación. Para el análisis de energía acumulada se convirtieron los gramos de alimento ingerido y la energía proporcionada por los edulcorantes hipocalóricos de venta comercial en kilojoules (kJ).

4.3.1 Análisis estadístico de alimento ingerido

En la Tabla 4.10 se presenta el promedio y la desviación estándar por cada grupo de edulcorante y sexo de la ingesta acumulada de alimento hasta el día 120. En el apartado de anexos se encuentran las tablas de verificación de la normalidad e identificación de los valores atípicos acumulados al día 120, así como la verificación de varianza de los datos por el método de Levene (Anexos 4 y 5).

Tabla 4.10 Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de alimento al día 120

Edulcorante	n	\bar{x} machos (g)	SD (g)	n	\bar{x} hembras (g)	SD (g)
ACE K	8	2300.5	127.1	8	1792.4	142.3
ASP	8	2158.0	183.3	8	1662.4	149.7
MEZCLA	8	2256.6	135.7	8	1666.1	161.0
SACH	7	<u>2291.4</u>	116.5	8	1682.6	146.3
SUCR	7	<u>2263.9</u>	107.0	7	1738.6	103.5
STEVIA	8	2418.9	178.7	8	1747.7	112.7
CONTROL	7	2425.2	43.8	8	1649.4	163.8

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

SD, desviación estándar por sus siglas en inglés; \bar{X} , promedio

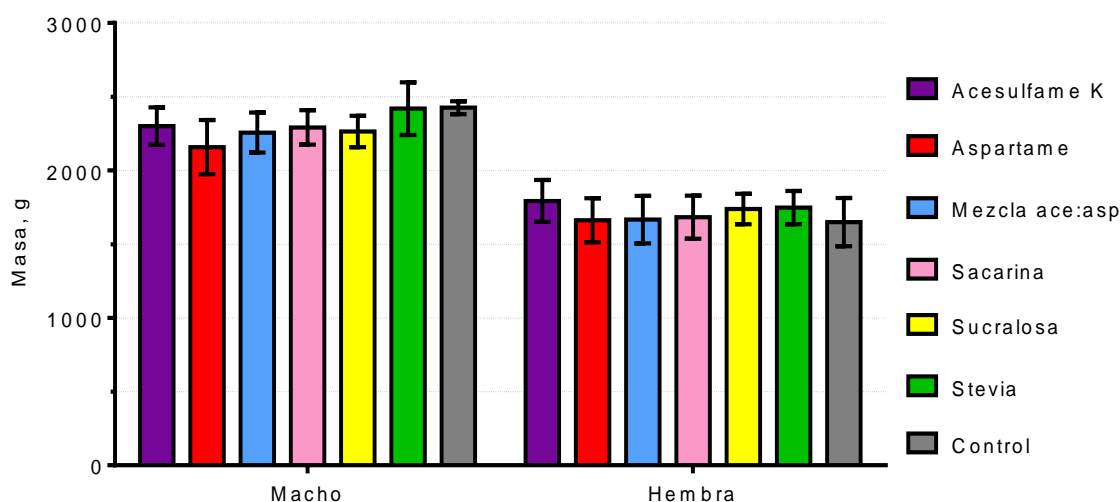
La Tabla 4.11 muestra los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, donde se evaluaron los factores edulcorante y sexo. Dado que el valor P fue menor a 0.05 se determina la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre ambos factores. Con respecto a la interacción de los mismos, éstos se comportan de manera similar, pues el valor P fue mayor a 0.05.

Tabla 4.11 Análisis de varianza para alimento acumulado - Suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Edulcorante	320345.	6	53390.9	2.74	0.0170
B:Sexo	9.57111E6	1	9.57111E6	490.76	0.0000
INTERACCIONES					
AB	232898.	6	38816.4	1.99	0.0747
RESIDUOS	1.83324E6	94	19502.5		
TOTAL (CORREGIDO)	1.19581E7	107			

Gl, grados de libertad

En la Gráfica 4.10 se aprecia la diferencia en cuanto al sexo; sin embargo, respecto a las diferencias entre los edulcorantes no fueron tan evidentes como en el caso del consumo acumulado de bebida con edulcorante (Gráfica 4.4).



Gráfica 4.10 Media por mínimos cuadrados y desviación estándar del alimento acumulado en roedores macho y hembra a lo largo del periodo de experimentación (120 días)

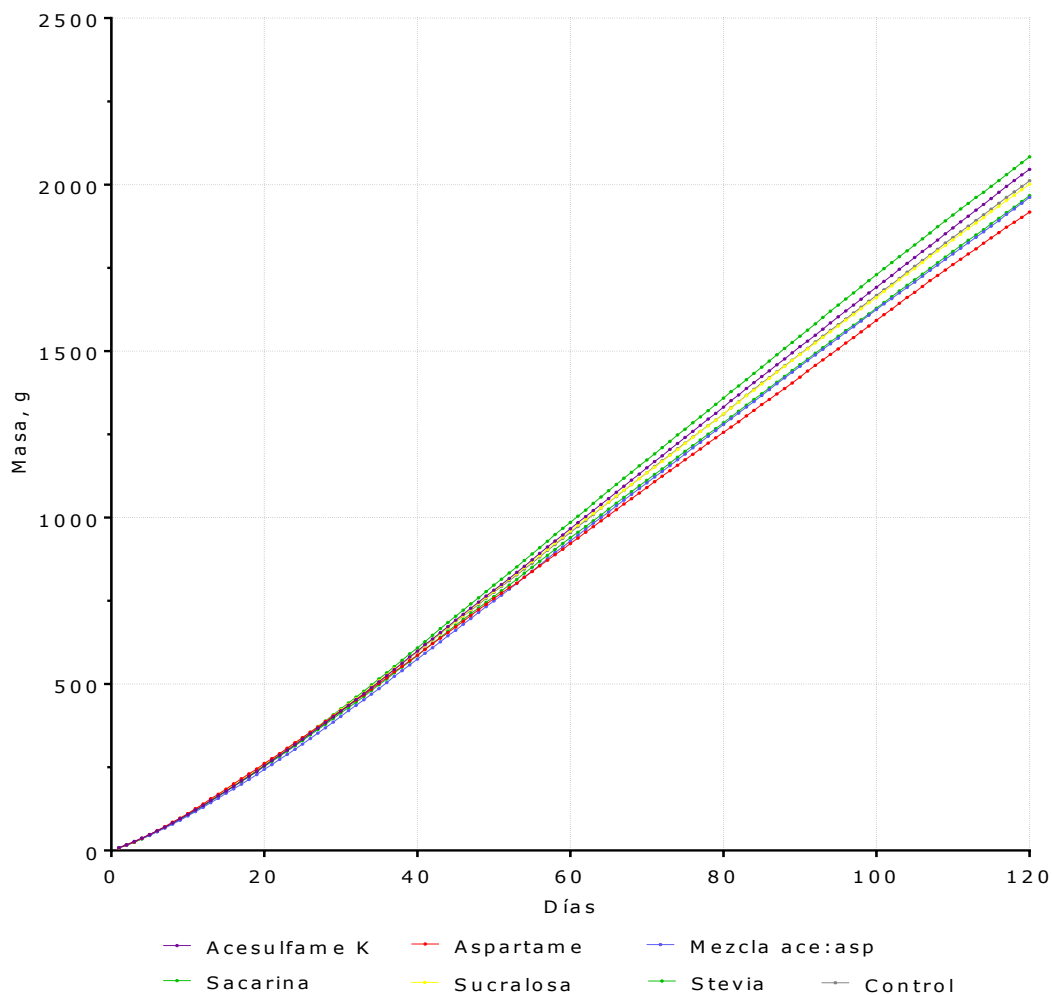
Con el objetivo de identificar las diferencias importantes entre los edulcorantes evaluados, se realizaron las comparaciones múltiples posteriores con ayuda de la prueba de Duncan. Los resultados concisos se encuentran en la Tabla 4.12.

Tabla 4.12 Pruebas de rangos múltiples para alimento acumulado por edulcorante – Método de Duncan al 95%

Edulcorante	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos homogéneos
Aspartame	16	1910.19	34.9128	X
Mezcla ace K:asp	16	1961.33	34.9128	X X
Sacarina	15	<u>1986.98</u> (m)	36.1382	X X X
Sucralosa	14	2001.24 (h,m)	37.3234	X X X
Control	15	2037.29 (m)	36.1382	X X
Acesulfame	16	2046.45	34.9128	X X
Stevia	16	2083.29	34.9128	X

* De los 16 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**), m = machos, h = hembras
 LS = *Least square* en inglés (media por mínimos cuadrados)

En los resultados se observa que se forman tres grupos homogéneos, en donde el grupo del edulcorante aspartame fue el que menor alimento ingirió, por lo que es diferente al grupo control, acesulfame K y *stevia*, quienes fueron los que mayor alimento consumieron. En la sección de anexos se enlistan las comparaciones desglosadas (Anexo 6). En el Gráfico 4.11 se describe la tendencia de la ingesta de alimento en roedores de ambos sexos. En ella se aprecia que a medida que los días se grafican, las curvas de cada edulcorante van definiéndose, al día 120 se observó que el grupo de *stevia* fue el que se encontró hasta arriba del conjunto, mientras que el grupo de aspartame, se ubicó debajo de mismo.



Gráfica 4.11 Tendencia del consumo de alimento en ratas macho y hembra a lo largo de los 120 días

4.3.2 Análisis estadístico de energía acumulada

Con el fin de incorporar las pocas calorías que aportan los edulcorantes hipocalóricos, se realizó el análisis estadístico de los kilojoules consumidos a través de los 120 días del bioensayo. En la Tabla 4.13 se enlistan las observaciones y el total de energía (kJ) por cada grupo de edulcorante y sexo.

Tabla 4.13 Observaciones, promedio y desviación estándar de cada grupo y sexo del consumo acumulado de energía al día 120

Edulcorante	n	\bar{x} machos (kJ)	SD (kJ)	n	\bar{x} hembras (kJ)	SD (kJ)
ACE K	8	30081.4	1799.3	8	23282.6	1886.8
ASP	8	23282.6	1886.8	8	21983.9	2099.9
MEZCLA	8	30582.1	1712.1	8	23252.2	1748.0
SACH	7*	<u>29787.7</u>	1514.3	8	21853.9	1896.6
SUCR	7*	<u>29779.0</u>	883.0	7*	22601.6	1345.9
STEVIA	8	31445.6	2322.8	8	22719.8	1465.0
CONTROL	7*	31527.8	569.4	8	21441.6	2129.8

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

SD, desviación estándar por sus siglas en inglés; \bar{x} , promedio

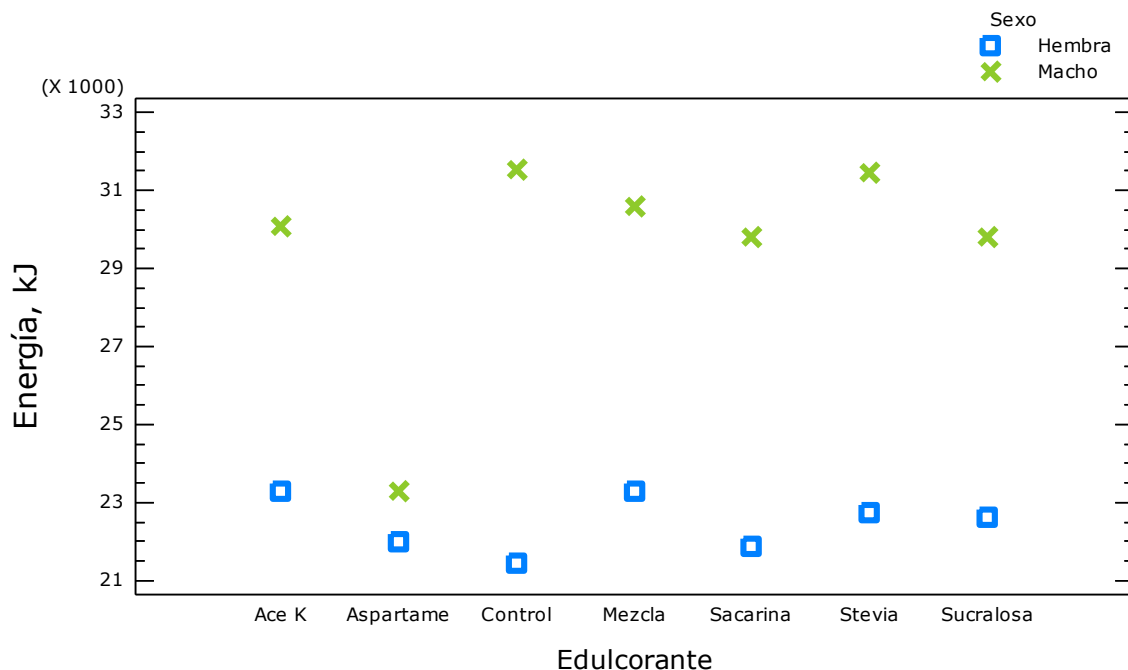
El tratamiento estadístico, análisis de varianza (ANOVA), se presenta a continuación en la Tabla 4.14. En ella se observa que, al poner la equivalencia de los gramos e integrar las calorías otorgadas por los edulcorantes artificiales, se obtiene una diferencia estadísticamente significativa en ambos factores, así como la interacción entre ellos. Por ello, se realizaron los análisis de varianza (ANOVA) simples de cada factor.

Tabla 4.14 Análisis de varianza para energía - Suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Edulcorante	2.25381E8	6	3.75635E7	12.34	0.0000
B:Sexo	1.33713E9	1	1.33713E9	439.09	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1.81455E8	6	3.02425E7	9.93	0.0000
RESIDUOS	2.8625E8	94	3.04522E6		
TOTAL (CORREGIDO)	2.01576E9	107			

Gl, grados de libertad

En la Gráfica 4.12 se observa claramente cómo la conducta de los roedores machos y hembras difiere en la mayoría de los grupos de edulcorantes; no obstante, el fenómeno opuesto se aprecia en el grupo de aspartame.



Gráfica 4.12 Interacciones entre los datos de consumo de energía acumulada al día 120 en hembras y machos

4.3.2.1 Análisis estadístico de energía acumulada en roedores macho

En relación con los especímenes machos, el análisis de varianza (Tabla 4.15) presentó la existencia de una diferencia significativa entre los grupos de edulcorantes hipocalóricos con respecto a la energía total consumida.

Tabla 4.15 Análisis de varianza (ANOVA) simple por edulcorante para energía en roedores macho

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3.81376E8	6	6.35626E7	23.16	0.0000
Intra grupos	1.26252E8	46	2.7446E6		
Total (Corr.)	5.07627E8	52			

Gl, grados de libertad

A fin de identificar las diferencias estadísticas entre los edulcorantes evaluados se realizaron las comparaciones posteriores por el *test* de Duncan (Tabla 4.16). Se

encontró que únicamente el grupo consumidor de aspartame es estadísticamente distinto al resto de los grupos.

Tabla 4.16 Pruebas de rangos múltiples por edulcorante para energía en roedores macho - Método: Duncan al 95.0%

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Aspartame	8	23282.6	X
Sucralosa	7	<u>29779.0</u>	X
Sacarina	7	<u>29787.7</u>	X
Acesulfame	8	30081.4	X
Mezcla ace K:asp	8	30582.1	X
Stevia	8	31445.6	X
Control	7	31527.8	X

* De los 8 especímenes de cada lote de edulcorante se eliminaron aquellos que estaban muy alejados de la mediana (atípicos), arriba (subrayados) o abajo (**negritas**)

4.3.2.2 Análisis estadístico de energía acumulada en roedores hembra

En cuanto a los especímenes hembra, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 4.17), en donde se halló que todos grupos de edulcorantes tuvieron un consumo energético similar, pues el valor P es mayor a 0.05.

Tabla 4.17 Análisis de varianza (ANOVA) simple por edulcorante para energía en roedores hembra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.41505E7	6	4.02508E6	1.21	0.3188
Intra grupos	1.59999E8	48	3.33331E6		
Total (Corr.)	1.84149E8	54			

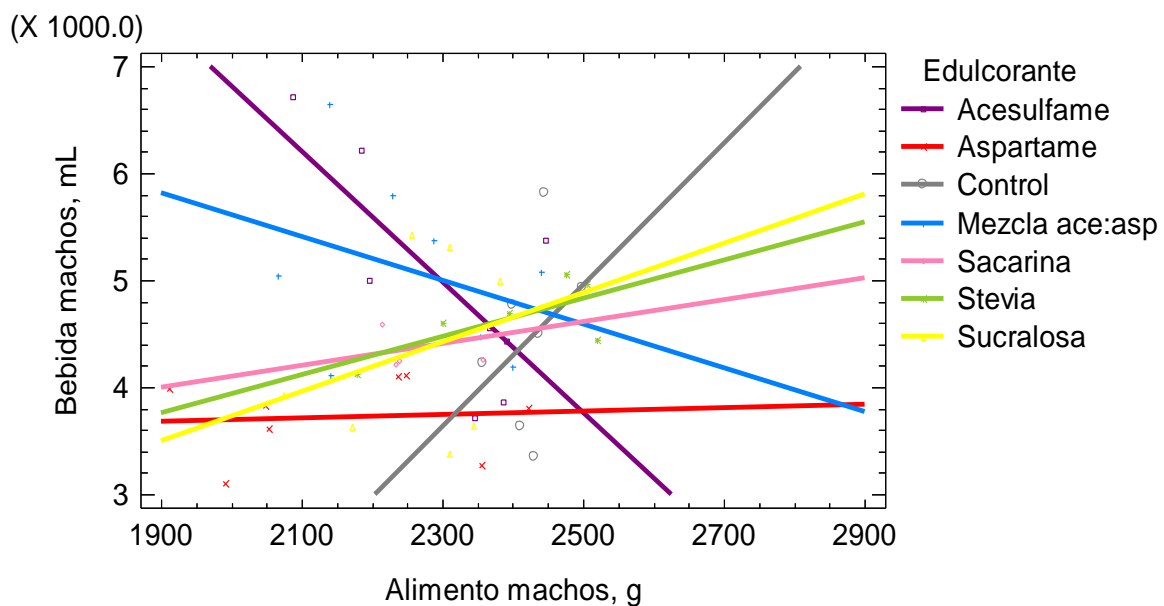
Gl, grados de libertad

4.4 Correlación de los incrementos acumulados

Se realizaron correlaciones entre las variables: consumo de bebida con edulcorante vs. cantidad de alimento ingerido, así como en el consumo de bebida con edulcorante vs. el incremento acumulado de masa corporal, haciéndose diferencia entre machos y hembras debido a que cada sexo posee un comportamiento distinto en cuanto al consumo de bebida con edulcorante.

4.4.1 Correlación entre la ingesta de alimento y el consumo de bebida con edulcorante

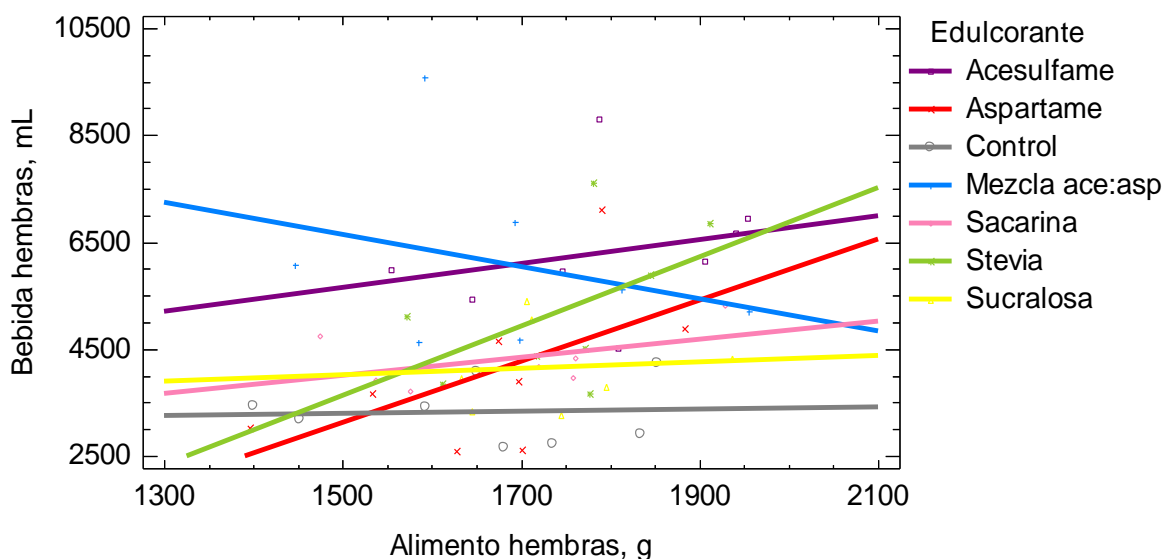
En la Gráfica 4.13, se presentan las correlaciones realizadas entre las variables consumo del edulcorante y la ingesta de alimento en roedores macho. En ellas se aprecian diferentes tendencias en cada uno de los edulcorantes. En el caso de sucralosa, *stevia* y sacarina se observó que a mayor consumo de alimento también hubo mayor consumo de bebida (pendiente positiva). Esta misma tendencia se ve reflejada en el grupo control, pero con una pendiente positiva más pronunciada. En cuanto a la mezcla de acesulfame K:aspartame y acesulfame de potasio presentaron una pendiente negativa lo cual sugiere una relación inversa entre el consumo de bebida y alimento.



Gráfica 4.13 Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e ingesta de alimento acumulado en ratas macho

En las correlaciones entre los especímenes hembras (Gráfica 4.14), se observó que el grupo control posee una pendiente cercana a la horizontal, lo que sugiere que la ingesta de alimento no se ve afectada por el consumo de agua. En el caso de la *stevia*, aspartame, acesulfame K, sacarina y sucralosa con pendientes positivas,

indican que, a mayor consumo de bebida, también iría aumentando el consumo de alimento. Este hallazgo indica la importancia de continuar estos experimentos.

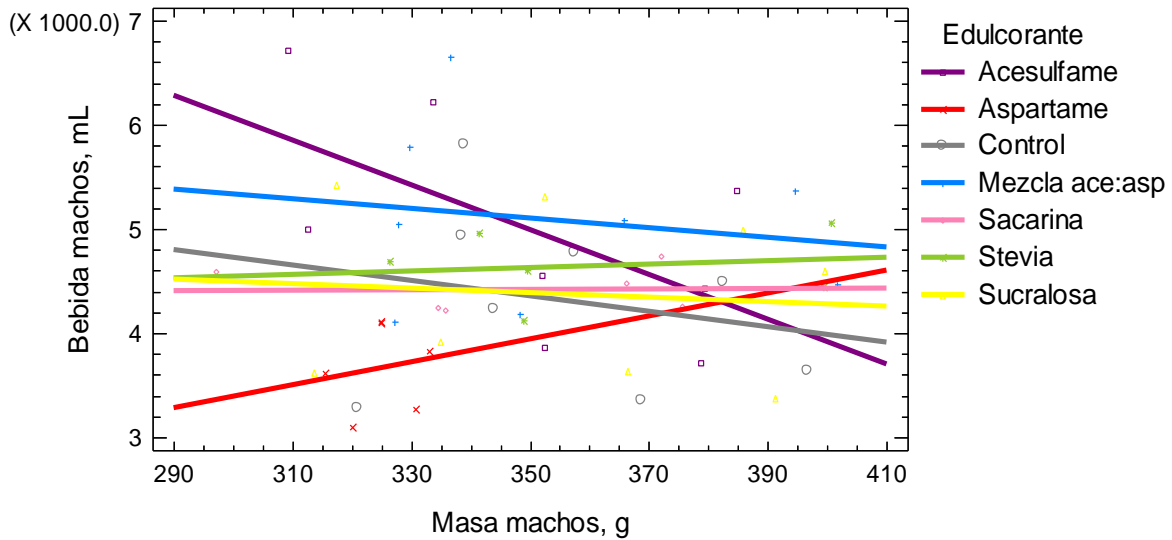


Gráfica 4.14 Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e ingesta de alimento acumulado en ratas hembra

Es importante considerar que los especímenes tienden a consumir mayores cantidades de alimento y bebida a lo largo del tiempo y a medida que van desarrollándose, por lo que estos comportamientos no son determinantes sino hasta que se puedan corroborar con pruebas complementarias, como la evaluación de las hormonas de la saciedad, grelina y leptina.

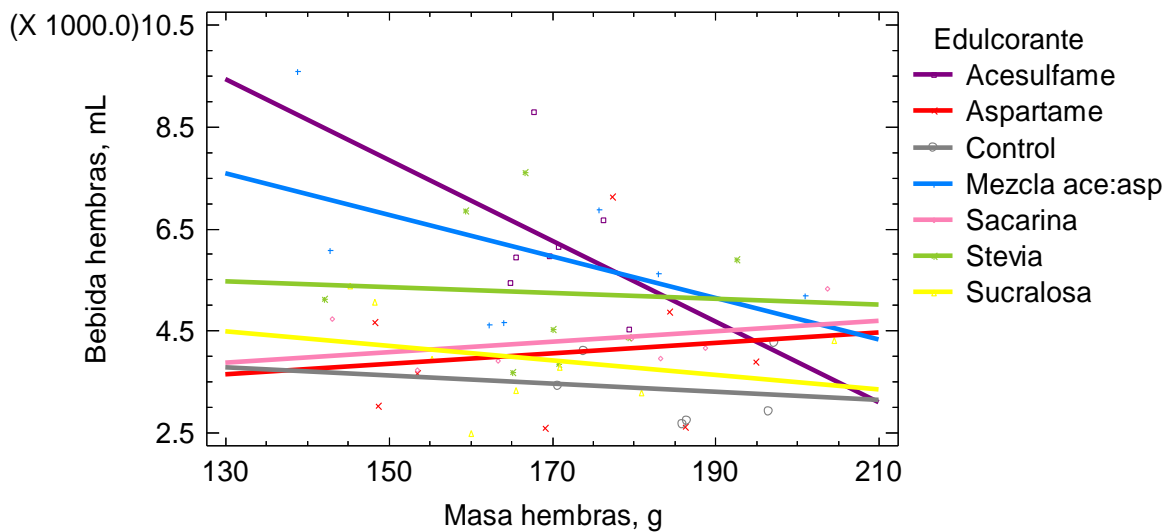
4.4.2 Correlación entre el incremento de masa corporal y el consumo de bebida con edulcorante

En cuanto al incremento acumulado de masa corporal, los resultados se observan en la Gráfica 4.15. En ella se aprecia que la mayoría de los grupos poseen pendientes negativas; no obstante, los grupos de aspartame y *stevia* conservan pendientes positivas, lo cual indica una relación directa entre las dos variables; es decir, que a medida que se consume bebida también aumentará el incremento en masa corporal.



Gráfica 4.15 Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e incremento acumulado de masa corporal en machos

Los resultados obtenidos en hembras se reúnen en la Gráfica 4.16, donde se aprecia que las únicas pendientes positivas son las de los grupos de aspartame y sacarina; lo que sugieren, al igual que en el caso de los machos, una relación directa entre las variables que indica que al aumentar su consumo de bebida también incrementará la masa corporal.



Gráfica 4.16 Comparación de líneas de regresión (correlación) para las variables de consumo de bebida acumulada e incremento acumulado de masa corporal en hembras

Estas comparaciones indican posibles tendencias; sin embargo, para conocer la fuerza de las correlaciones se requieren análisis de datos extras, como el estudio de los órganos, los análisis bioquímicos y de hormonas que se realizarán posteriormente y la corroboración con experimentos subsecuentes.

4.5 Ingesta diaria de edulcorante, IDE

Como se observó en las gráficas anteriores (Gráficas 4.7 y 4.9) donde se describe la tendencia del consumo de la bebida, se aprecian grupos de roedores que, al consumir el edulcorante con el agua, el comportamiento en cuanto al consumo de líquido vital se vio modificado con la adición del edulcorante. Por ello, es relevante conocer si los especímenes rebasaron los límites de ingesta diaria admisible (IDA) propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con el comité de expertos en aditivos alimentarios (*JECFA*).

Para obtener la cantidad de edulcorante consumido diariamente, se empleó la cantidad de mililitros bebidos, la concentración de la solución y la masa corporal del día. El valor obtenido diariamente de este procesamiento de datos se promedió a lo largo de los 120 días de experimentación. Además de ello, con el objetivo de hacer las comparaciones pertinentes, se calculó una media grupal.

En el caso particular de la infusión elaborada con las hojas secas de *stevia*, se estimó un contenido aproximado de rebaudiósido A en las hojas y en la solución. Se optó, según la bibliografía consultada, que las hojas de *stevia* contienen un 12% de glucósidos dulces en base seca, dentro de los cuales el 90% corresponde al rebaudiósido A (Lorenzo *et al.*, 2014).

4.5.1 Comparación con la ingesta diaria admisible, IDA

A fin de poder comparar los límites establecidos para cada uno de los edulcorantes, es necesario recordar que estos valores propuestos por los expertos en aditivos alimentarios consideran la dosis de aditivo donde no se presenta efecto observable entre un factor de seguridad que generalmente es equivalente a 100. El factor de seguridad (FS) de 100 incluye la variación intraespecie (10); así, como la

extrapolación de animales de laboratorio o humanos, es decir, variación interespecie (10) (Valle-Vega y Lucas-Florentino, 2000).

En este caso, donde por ejemplo, se tiene un valor de IDA de 15 mg/kg de masa corporal aplicable en humanos, se requiere suprimir el factor de seguridad (10) de variación interespecie. Por ello es que el valor de IDA para las comparaciones pertinentes se establecerá en 150 mg/kg de masa corporal, dejando como único factor (10) la variación intraespecie con fin de considerar la variabilidad de respuesta entre los diferentes individuos y proteger aquellos más susceptibles o hipersensibles (Valle-Vega y Lucas-Florentino, 2000). A continuación, en la Tabla 4.18 se presentan los resultados de la ingesta diaria de edulcorante para ratas de laboratorio macho y hembra en comparación con los límites recomendados y ajustados.

Tabla 4.18 Comparación entre los límites recomendados ajustados para animales de laboratorio y el promedio consumido por machos y hembras a lo largo del experimento (120 días)

Edulcorante	WHO / JECFA*	\bar{x} machos	\bar{x} hembras
Ace K	150 mg/kg mc	98 mg/kg mc	158 mg/kg mc
Aspartame	400 mg/kg mc	10 mg/kg mc	15 mg/kg mc
Sacarina	50 mg/kg mc	58 mg/kg mc	73 mg/kg mc
Sucralosa	150 mg/kg mc	26 mg/kg mc	36 mg/kg mc
Rebaudiósido A	40 mg/kg mc	183 mg/kg mc	277 mg/kg mc

*Valor ajustado para rata de laboratorio

En la tabla comparativa anterior se observa que las ingestas diarias de algunos edulcorantes sobrepasan los límites recomendados. En el caso del acesulfame de potasio; el valor obtenido del consumo diario es únicamente rebasado por las ratas hembras. En el caso de la sacarina de sodio, la ingesta sobrepasa en ambos sexos; no obstante, el valor se encuentra relativamente cercano al límite recomendado. El resultado más destacable obtenido es el del rebaudiósido A, pues en ambos sexos se sobrepasa de 4.5 a 6.9 veces el límite propuesto; esto probablemente debería generar algún efecto adverso. En los trabajos posteriores donde se analizarán histologías de diversos órganos y estudios bioquímicos, valdría la pena poner principal atención en este edulcorante.

4.6 Análisis de resultados y discusión

En seguida se exponen en conjunto, los resultados y análisis del bioensayo. Las principales diferencias encontradas entre los especímenes macho y hembra fueron: en cuanto al incremento de masa corporal, corresponden a los valores sugeridos por la curva normal de crecimiento otorgada por el proveedor de modelos biológicos Envigo® (Anexo 1). Este patrón, en el que los edulcorantes no parecen afectar a la ganancia de masa corporal, puede deberse a que los roedores se alimentaron con una dieta balanceada, que incluye la cantidad de macro- y micro-nutrientes que los animales necesitan para desarrollarse apropiadamente y cumplir con sus requerimientos fisiológicos. Es importante cuestionar cómo sería el incremento de masa corporal con los distintos edulcorantes si los especímenes hubieran sido alimentados con dietas altas en grasa o altas en glúcidos como aquellas a las que los seres humanos tienen acceso hoy en día especialmente en los núcleos urbanos.

En relación con el consumo de bebida endulzada con edulcorante, se encontró que ambos sexos bebieron cantidades similares; no obstante, cada sexo se comportó diferente ante los edulcorantes evaluados. Las similitudes principales fueron que los grupos de acesulfame K, la mezcla comercial ace K:asp y la infusión de hojas de *stevia* se ubicaron entre los mayores consumidores de líquido en ambos sexos. Es importante mencionar que la infusión de *stevia* arrojó resultados interesantes en todos los rubros analizados. Como ya se mencionó, se encuentra dentro de los grupos que más beben; sin embargo, también se encuentra el grupo de *stevia* entre los que más ingirieron alimento. Además, en las correlaciones realizadas entre las variables de consumo de bebida vs. incremento de masa corporal se observó una relación directa entre ellas. Es decir, que mientras más se consuma la infusión de *stevia*, mayor será el incremento en masa corporal debido a que también incrementa su ingesta de alimento. Estos resultados llevan a especular sobre si el edulcorante posee algún efecto sobre la saciedad o incluso sobre la estimulación del apetito. Éste es un hallazgo que debe estudiarse.

Otra cuestión probablemente significativa sucede con el edulcorante aspartame, pues a pesar de encontrarse en los últimos puestos de consumo de alimento y

bebida; los resultados de las correlaciones sugieren una relación directa en todos los análisis, consumo de bebida vs. consumo de alimento y consumo de bebida vs. incremento de masa corporal. De manera similar sucedió con el edulcorante acesulfame de potasio, ya que éste se encuentra en las posiciones de mayor consumo de bebida y alimento. En el análisis de las correlaciones de consumo de bebida vs. incremento de masa corporal en hembras, es en donde se observó una pendiente positiva, es decir una relación directa entre las dos variables.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos y el objetivo general planteado, de evaluar a mediano plazo los efectos del consumo de seis edulcorantes hipocalóricos (acesulfame de potasio, aspartame, mezcla comercial acesulfame K:aspartame, sacarina de sodio, sucralosa y hojas secas de *Stevia rebaudiana* Bertoni) en un modelo animal, ratas *Wistar* recién destetadas macho y hembra, contabilizando la cantidad de alimento y bebida con edulcorante consumido así como el incremento diario de masa corporal; a continuación se dan las conclusiones de esta investigación.

Además, dados los objetivos específicos de comparar los consumos acumulados de alimento y bebida entre los distintos edulcorantes suministrados, de cotejar los incrementos de masa corporal de cada uno de los grupos de edulcorantes evaluados, de identificar si existen diferencias entre el sexo del espécimen en cuanto al consumo de alimento y bebida, de observar y analizar los patrones de consumo de bebida e ingesta de alimento con la finalidad de correlacionar ambas variables, de cuantificar el monto diario de bebida consumida con la intención de identificar una posible conexión con la ganancia en masa corporal y, finalmente, de medir la ingesta energética diaria de alimento y bebida consumidos con la finalidad de hallar una posible relación con la ganancia en masa corporal, se exhiben las siguientes conclusiones:

- Los incrementos de masa corporal entre los grupos de edulcorantes hipocalóricos fueron similares entre sí, ya que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$); sin embargo, las tendencias sugieren que quizás si el experimento hubiera sido prolongado se hubieran encontrado diferencias importantes (Guzmán-Gómez, 2013).
- La masa corporal de los roedores de todos los grupos que bebieron edulcorantes artificiales fue saludable hasta los 120 días del bioensayo, esto

si se compara con la curva de crecimiento de Envigo® la cual resultó muy similar.

- Las comparaciones entre los consumos acumulados de alimento y energía determinaron que en machos y en hembras el comportamiento de ambas variables difirió entre los edulcorantes evaluados.
- En cuanto al consumo de bebida, las hembras presentaron una conducta de consumo distinta al de los machos; no obstante, en relación con a la ingesta de alimento, el comportamiento de las hembras fue similar al de los machos.
- Con referencia a cuantificación del monto diario de bebida consumida con la intención de identificar una posible conexión con la ganancia en masa corporal sí se encontró, en los roedores macho, que los grupos de aspartame y *stevia* conservan pendientes positivas en las correlaciones, lo cual indica una relación directa entre las dos variables; es decir, que a medida que se consume bebida también aumentará el incremento en masa corporal.
- Se encontró que, al medir la ingesta energética diaria de alimento y bebida consumidos, únicamente el grupo de roedores macho que bebieron aspartame fue estadísticamente distinto al resto de los grupos, pues su ingesta calórica fue inferior.

5.2 Recomendaciones

Al cabo de este experimento y el análisis de los datos, las nuevas incógnitas son múltiples. Se propone, principalmente, continuar con:

- Evaluación de la microbiota intestinal a través de su excremento a lo largo del periodo experimental, pues artículos recientes dictan la modificación de ésta debido al consumo de los edulcorantes.
- Observación de la respuesta de la ganancia corporal ante el consumo de edulcorantes artificiales con dietas no balanceadas o en diferentes matrices alimentarias.

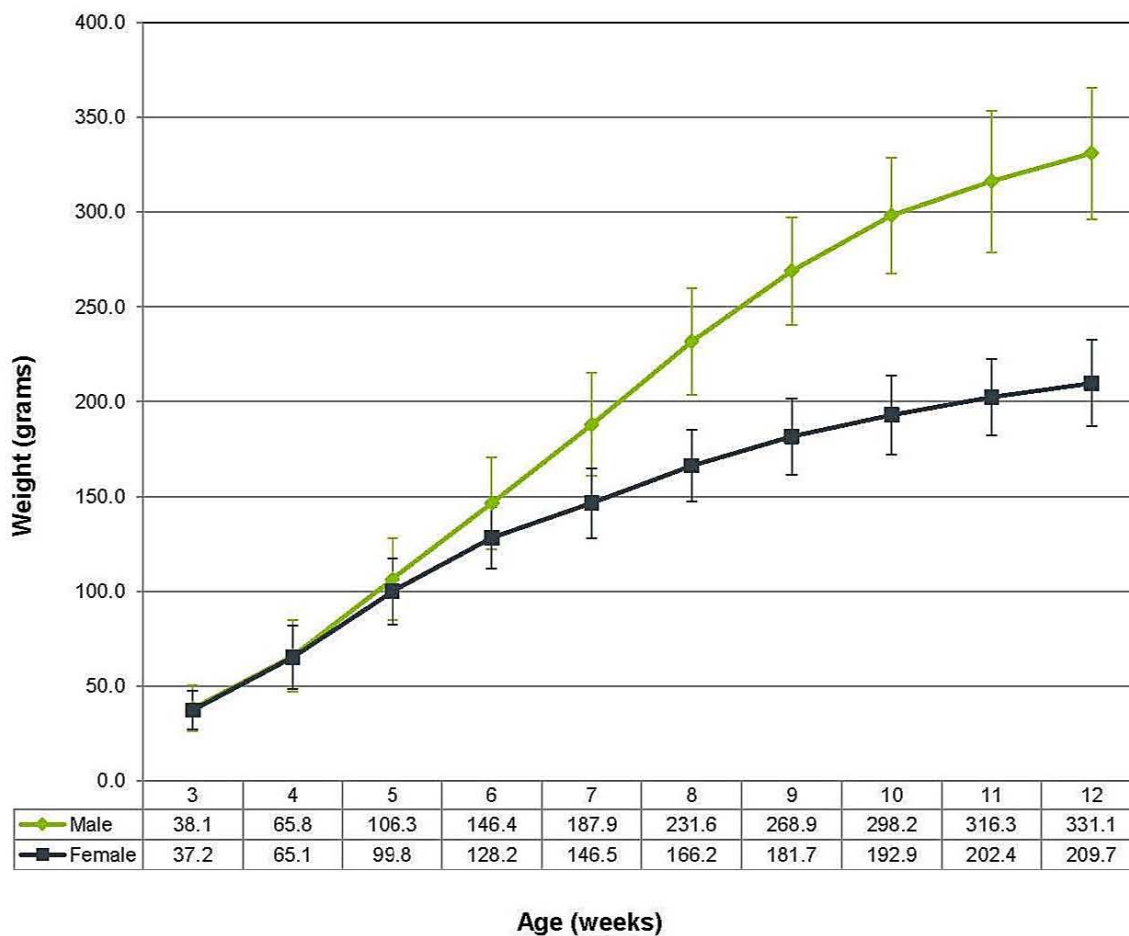
- Continuación con los estudios en hembras pues los cambios hormonales propios del sexo pueden continuar generando resultados distintos al de los machos, que se correlacionarían con la tendencia actual de sobrepeso y obesidad en la población femenina en México.
- Continuación de las pruebas de consumo crónico de edulcorantes artificiales hasta que los especímenes alcancen el climaterio (período de la vida en que cesa la función reproductora), debido a que el metabolismo se va modificando a lo largo de la vida (Soffritti *et al.*, 2016).

ANEXO 1

Curva de crecimiento del modelo animal

HsdHan:WIST

Production Facility 610 Jerusalem, IL (2015)



Maintained on Teklad Global Rodent Diet 2018S
(18% Protein)
Cage floor space: 120.75 in²

Growth data to be used as guideline only.
Data can be subject to differences in maintenance of rats.
Growth chart includes mean + 2 SD's representative of population distribution.

ANEXO 2

Certificados de salud de los especímenes



CERTIFICADO

En cumplimiento de la normatividad vigente, **NORMA Oficial Mexicana NOM-62-ZOO-1999 en su numeral 4 (300.02.0802011157/12)** por este conducto certifico que los animales amparados por la **Factura H2479** de Harlan Laboratories, S.A. de CV., se encontraron sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en el "Centro UNAM-Harlan de Producción de Animales de Laboratorio", un sistema de barrera que brinda las condiciones técnica y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio con un perfil microbiológico definido.

El estado de salud de todos los animales y la autenticidad genética de las cepas endogámicas producidas en la Barrera Harlan No. 650 de la Ciudad de México (Centro UNAM-Harlan), se evalúan periódicamente y los resultados se publican trimestralmente en www.harlan.com. Además, a solicitud del cliente, se anexan al presente certificado, el cual se expide en la Ciudad de México a **03 días del mes de Agosto del 2015.**

Especie	Cantidad	Cepa	Edad/Peso	Sexo
Rata	19	HsdHan: Wistar	35-49 gr.	Hembras
Rata	25	HsdHan: Wistar	35-49 gr	Machos

Marisol Rivera Huerta
Medico Veterinario Zootecnista
Cedula Profesional No. 3163986



CERTIFICADO

En cumplimiento de la normatividad vigente, **NORMA Oficial Mexicana NOM-62-ZOO-1999 en su numeral 4 (300.02.0802011157/12)** por este conducto certifico que los animales amparados por la **Remisión 23766** de Harlan Laboratories, S.A. de CV., se encontraron sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en el "Centro UNAM-Harlan de Producción de Animales de Laboratorio", un sistema de barrera que brinda las condiciones técnica y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio con un perfil microbiológico definido.

El estado de salud de todos los animales y la autenticidad genética de las cepas endogámicas producidas en la Barrera Harlan No. 650 de la Ciudad de México (Centro UNAM-Harlan), se evalúan periódicamente y los resultados se publican trimestralmente en www.harlan.com. Además, a solicitud del cliente, se anexan al presente certificado, el cual se expide en la Ciudad de México a **05 días del mes de Agosto del 2015.**

Especie	Cantidad	Cepa	Edad/Peso	Sexo
Rata	25	HsdHan: Wistar	28-35gr.	Hembras
Rata	19	HsdHan: Wistar	28-45 gr	Machos

Marisol Rivera Huerta
Medico Veterinario Zootecnista
Cédula Profesional No. 123456789



Health Monitoring Report

Latest Monthly Update: 1 June 2015

Location: Mexico City, Mexico	Barrier: 650			Species: Rat	
Viruses	Most Recent Test Date	Most Recent Results^a	Historical Results^{a,e}	Test Frequency^c	Test Method
Hantaan Virus	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	MFI
Kilham's Rat Virus (KRV)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCM)	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	MFI
Mouse Adenovirus type 1 (FL)(MAD-1)	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	MFI
Mouse Adenovirus type 2 (K87)(MAD-2)	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	MFI
Pneumonia Virus of Mice (PVM)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Rat Minute Virus (RMV)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Rat Parvovirus (RPV)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Rat Theiler Virus (RTV)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Respiratory Enteric Virus III (REO 3)	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	MFI
Sendai Virus	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)(RCV)	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Toolan's H-1 Parvovirus	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	MFI
Bacteria, Mycoplasma and Fungi					
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
<i>CAR Bacillus</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	MFI
<i>Clostridium piliforme</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	MFI
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
Dermatophytes	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	Culture
<i>Helicobacter bilis</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	PCR
<i>Helicobacter hepaticus</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	PCR
<i>Helicobacter spp</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	PCR
<i>Klebsiella oxytoca</i>	13-May-15	0 / 2	1 / 54	Quarterly	Culture
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	MFI
<i>Pasteurella multocida</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	Culture
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	Culture
<i>Pneumocystis carinii</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	PCR
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
<i>Salmonella spp</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
<i>Staphylococcus aureus</i>	13-May-15	1 / 3	12 / 55	Quarterly	Culture
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	PCR
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 54	Quarterly	Culture
<i>Streptococcus spp Group B beta</i>	13-May-15	1 / 2	1 / 54	Quarterly	Culture
Parasites					
Ectoparasites	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	Microscopy
Endoparasites	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	Microscopy
Enteric Protozoan	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	Microscopy
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 6	Semi-Annually	MFI
Pathological Lesions					
Gross Exam	13-May-15	0 / 14	0 / 127	Bimonthly	Pathology

Testing Laboratory: IDEXX BioResearch
 Report Released: 1 June 2015
 Date Barrier Populated: 2001
 Species Within Barrier: Mouse, Rat

Outbred
 Hsd:Sprague Dawley[®]SD[®]
 Hsd:WI

Report Notes:

- a Data are expressed as number animals positive/number tested.
- c Testing intervals are reported per room, however, barriers with multiple rooms have more frequent testing intervals.
- e Historical results include 18 months of cumulative data.

William Porter, D.V.M.

William Porter, DVM, DACLAM
 Director, Laboratory Animal Medicine - North America



Helping you
do research better

CERTIFICADO

En cumplimiento de la normatividad vigente, **NORMA Oficial Mexicana NOM-62-ZOO-1999 en su numeral 4 (300.02.0802011157/12)** por este conducto certifico que los animales amparados por la **Remisión 73** de Envigo RMS, S.A. de CV., se encontraron sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en el "Centro UNAM-Harlan de Producción de Animales de Laboratorio", un sistema de barrera que brinda las condiciones técnica y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio con un perfil microbiológico definido.

El estado de salud de todos los animales y la autenticidad genética de las cepas endogámicas producidas en la Barrera Harlan No. 650 de la Ciudad de México (Centro UNAM-Harlan), se evalúan periódicamente y los resultados se publican trimestralmente en www.envigo.com. Además, a solicitud del cliente, se anexan al presente certificado, el cual se expide en la Ciudad de México a **09 días del mes de Diciembre del 2015.**

Especie	Cantidad	Cepa	Edad/Peso	Sexo
Rata	22	HsdHan: Wistar	35-49 g	Hembras
Rata	22	HsdHan: Wistar	35-49 g	Machos



Marisol Rivera Huerta
 Médico Veterinario Zootecnista
 Cedula Profesional No. 3163968

CERTIFICADO

En cumplimiento de la normatividad vigente, **NORMA Oficial Mexicana NOM-62-ZOO-1999 en su numeral 4 (300.02.0802011157/12)** por este conducto certifico que los animales amparados por la **Remisión 85** de Envigo RMS, S.A. de CV., se encontraron sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en el "Centro UNAM-Harlan de Producción de Animales de Laboratorio", un sistema de barrera que brinda las condiciones técnica y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio con un perfil microbiológico definido.

El estado de salud de todos los animales y la autenticidad genética de las cepas endogámicas producidas en la Barrera Harlan No. 650 de la Ciudad de México (Centro UNAM-Harlan), se evalúan periódicamente y los resultados se publican trimestralmente en www.envigo.com. Además, a solicitud del cliente, se anexan al presente certificado, el cual se expide en la Ciudad de México a **11 días del mes de Diciembre del 2015.**

Especie	Cantidad	Cepa	Edad/Peso	Sexo
Rata	22	HsdHan: Wistar	35-49 gr	Machos
Rata	22	HsdHan: Wistar	50-60 gr	Hembras



Marisol Rivera Huerta
Médico Veterinario Zootecnista
 Cédula Profesional No: 3163986

Health Monitoring Report

Latest Monthly Update: 6 November 2015



Location: Mexico City, Mexico	Barrier: 650			Species: Rat	
Viruses	Most Recent Test Date	Most Recent Results ^a	Historical Results ^{a,c}	Test Frequency ^c	Test Method
Hantaan Virus	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	MFI
Kilham's Rat Virus (KRV)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCM)	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	MFI
Mouse Adenovirus type 1 (FL)(MAD-1)	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	MFI
Mouse Adenovirus type 2 (K87)(MAD-2)	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	MFI
Pneumonia Virus of Mice (PVM)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Rat Minute Virus (RMV)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Rat Parvovirus (RPV)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Rat Theiler Virus (RTV)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Respiratory Enteric Virus III (REO 3)	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	MFI
Sendai Virus	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)(RCV)	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Toolan's H-1 Parvovirus	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	MFI
Bacteria, Mycoplasma and Fungi					
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
<i>CAR Bacillus</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	MFI
<i>Clostridium piliforme</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	MFI
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
Dermatophytes	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	Culture
<i>Helicobacter bilis</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	PCR
<i>Helicobacter hepaticus</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	PCR
<i>Helicobacter</i> spp	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	PCR
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9-Jul-15	0 / 12	1 / 52	Quarterly	Culture
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	MFI
<i>Pasteurella multocida</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	Culture
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	Culture
<i>Pneumocystis carinii</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	PCR
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
<i>Salmonella</i> spp	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
<i>Staphylococcus aureus</i>	9-Jul-15	2 / 12	12 / 52	Quarterly	Culture
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	PCR
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9-Jul-15	0 / 12	0 / 52	Quarterly	Culture
<i>Streptococcus</i> spp Group B beta	9-Jul-15	0 / 12	1 / 52	Quarterly	Culture
Parasites					
Ectoparasites	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	Microscopy
Endoparasites	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	Microscopy
Enteric Protozoan	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	Microscopy
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	13-May-15	0 / 2	0 / 4	Semi-Annually	MFI
Pathological Lesions					
Gross Exam	17-Sep-15	0 / 12	0 / 100	Monthly	Pathology

Testing Laboratory: IDEXX BioResearch
 Report Released: 6 November 2015
 Date Barrier Populated: 2001
 Species Within Barrier: Mouse, Rat

Report Notes:

- a Data are expressed as number animals positive/number tested.
- c Testing intervals are reported per room; however, barriers with multiple rooms have more frequent testing intervals.
- e Historical results include 18 months of cumulative data.

Outbred
 Hsd:Sprague Dawley®SD®
 Hsd:WI

William Porter, D.V.M.

William Porter, DVM, DACLAM
 Director, Laboratory Animal Medicine - North America

ANEXO 3

Hoja de especificaciones de la dieta Teklad Global 18%



Teklad Global 18% Protein Rodent Diet (Sterilizable)

Product Description - 2018S is a fixed formula, autoclavable diet manufactured with high quality ingredients and designed to support gestation, lactation, and growth of rodents. 2018S does not contain alfalfa, thus lowering the occurrence of natural phytoestrogens. Typical isoflavone concentrations (daidzein + genistein aglycone equivalents) range from 150 to 250 mg/kg. Exclusion of alfalfa reduces chlorophyll, improving optical imaging clarity. Absence of animal protein and fish meal minimizes the presence of nitrosamines. 2018S is supplemented with additional vitamins to ensure nutritional adequacy after autoclaving. **Also available certified (2018SC), the diet most commonly fed in Envigo Rodent Colonies.**

Ingredients (in descending order of inclusion)- Ground wheat, ground corn, wheat middlings, dehulled soybean meal, corn gluten meal, soybean oil, calcium carbonate, dicalcium phosphate, brewers dried yeast, iodized salt, L-lysine, DL-methionine, choline chloride, kaolin, menadione sodium bisulfite complex (source of vitamin K activity), magnesium oxide, vitamin E acetate, calcium pantothenate, thiamin mononitrate, manganese oxide, niacin, ferrous sulfate, zinc oxide, riboflavin, vitamin A acetate, pyridoxine hydrochloride, copper sulfate, vitamin B₁₂ supplement, folic acid, calcium iodate, biotin, vitamin D₃ supplement, cobalt carbonate.

Macronutrients		
Crude Protein	%	18.6
Fat (ether extract) ^a	%	6.2
Carbohydrate (available) ^b	%	44.2
Crude Fiber	%	3.5
Neutral Detergent Fiber ^c	%	14.7
Ash	%	5.3
Energy Density ^d	kcal/g (kJ/g)	3.1 (13.0)
Calories from Protein	%	24
Calories from Fat	%	18
Calories from Carbohydrate	%	58
Minerals		
Calcium	%	1.0
Phosphorus	%	0.7
Non-Phytate Phosphorus	%	0.4
Sodium	%	0.2
Potassium	%	0.6
Chloride	%	0.4
Magnesium	%	0.2
Zinc	mg/kg	70
Manganese	mg/kg	100
Copper	mg/kg	15
Iodine	mg/kg	6
Iron	mg/kg	200
Selenium	mg/kg	0.23
Amino Acids		
Aspartic Acid	%	1.4
Glutamic Acid	%	3.4
Alanine	%	1.1
Glycine	%	0.8
Threonine	%	0.7
Proline	%	1.6
Serine	%	1.1
Leucine	%	1.8
Isoleucine	%	0.8
Valine	%	0.9
Phenylalanine	%	1.0
Tyrosine	%	0.6
Methionine	%	0.6
Cystine	%	0.3
Lysine	%	1.1
Histidine	%	0.4
Arginine	%	1.0
Tryptophan	%	0.2

Standard Product Form:

Vitamins		
Vitamin A ^{e, f}	IU/g	30.0
Vitamin D ₃ ^{e, g}	IU/g	2.0
Vitamin E	IU/kg	135
Vitamin K ₃ (menadione)	mg/kg	100
Vitamin B ₁ (thiamin)	mg/kg	117
Vitamin B ₂ (riboflavin)	mg/kg	27
Niacin (nicotinic acid)	mg/kg	115
Vitamin B ₆ (pyridoxine)	mg/kg	26
Pantothenic Acid	mg/kg	140
Vitamin B ₁₂ (cyanocobalamin)	mg/kg	0.15
Biotin	mg/kg	0.90
Folate	mg/kg	9
Choline	mg/kg	1200
Fatty Acids		
C16:0 Palmitic	%	0.7
C18:0 Stearic	%	0.2
C18:1ω9 Oleic	%	1.2
C18:2ω6 Linoleic	%	3.1
C18:3ω3 Linolenic	%	0.3
Total Saturated	%	0.9
Total Monounsaturated	%	1.3
Total Polyunsaturated	%	3.4
Other		
Cholesterol	mg/kg	--

^a Ether extract is used to measure fat in pelleted diets, while an acid hydrolysis method is required to recover fat in extruded diets. Compared to ether extract, the fat value for acid hydrolysis will be approximately 1% point higher.

^b Carbohydrate (available) is calculated by subtracting neutral detergent fiber from total carbohydrates.

^c Neutral detergent fiber is an estimate of insoluble fiber, including cellulose, hemicellulose, and lignin. Crude fiber methodology underestimates total fiber.

^d Energy density is a calculated estimate of metabolizable energy based on the Atwater factors assigning 4 kcal/g to protein, 9 kcal/g to fat, and 4 kcal/g to available carbohydrate.

^e Indicates added amount but does not account for contribution from other ingredients.

^f 1 IU vitamin A = 0.3 µg retinol

^g 1 IU vitamin D = 25 ng cholecalciferol

For nutrients not listed, insufficient data is available to quantify.

Nutrient data represent the best information available, calculated from published values and direct analytical testing of raw materials and finished product. Nutrient values may vary due to the natural variations in the ingredients, analysis, and effects of processing.



ANEXO 4

Identificación de valores atípicos por *MAD* (*median absolute deviation*) y
verificación de la normalidad por sesgo y curtosis

INCREMENTO ACUMULADO DE MASA CORPORAL (g)

Identificación de Valores Atípicos - ACE K machos

Datos/Variable: ACE K machos

8 valores con rango desde 309.1 a 384.8

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ACE K machos

Recuento	8
Promedio	350.3
Desviación estándar	29.8817
Coef. de variación	8.53032%
Mínimo	309.1
Máximo	384.8
Rango	75.7
Sesgo estandarizado	-0.331515
Curtosis estandarizada	-0.898467

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	309.1	-1.08474
2	312.5	-0.999166
4	333.6	-0.468123
3	352.0	-0.00503358
6	352.4	0.00503358
5	378.6	0.664433
1	379.4	0.684567
7	384.8	0.820474

Identificación de Valores Atípicos - ACE K hembras

Datos/Variable: ACE K hembras

8 valores con rango desde 164.9 a 212.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para ACE K hembras

Recuento	7
Promedio	170.6
Desviación estándar	5.40864
Coef. de variación	3.17036%
Mínimo	164.9
Máximo	179.4
Rango	14.5
Sesgo estandarizado	0.831138
Curtosis estandarizada	-0.344561

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
3	164.9	-0.789659
7	165.6	-0.6745
8	167.7	-0.329024
5	169.7	0.0
6	170.7	0.164512
1	176.2	1.06933
4	179.4	1.59577
2	X 212.0	

Identificación de Valores Atípicos - ASP machos

Datos/Variable: ASP machos

8 valores con rango desde 232.8 a 360.6

Número de valores actualmente excluidos: 2

Resumen Estadístico para ASP machos

Recuento	6
Promedio	324.817
Desviación estándar	6.48025
Coef. de variación	1.99505%
Mínimo	315.5
Máximo	332.9
Rango	17.4
Sesgo estandarizado	-0.207944
Curtosis estandarizada	-0.437683

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	X 232.8	
6	315.5	-1.1851
3	320.0	-0.617766
1	324.9	0.0
8	324.9	0.0
2	330.7	0.731234
7	332.9	1.0086
5	X 360.6	

Identificación de Valores Atípicos - ASP hembras

Datos/Variable: ASP hembras

8 valores con rango desde 148.3 a 194.9

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ASP hembras

Recuento	8
Promedio	170.262
Desviación estándar	18.3026
Coef. de variación	10.7496%
Mínimo	148.3
Máximo	194.9
Rango	46.6
Sesgo estandarizado	-0.123312
Curtosis estandarizada	-1.05093

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	148.3	-1.02409
7	148.6	-1.01175
6	153.4	-0.814335
1	169.1	-0.168625
5	177.3	0.168625
2	184.3	0.456521
3	186.2	0.534665
4	194.9	0.892479

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA machos

Datos/Variable: MEZCLA machos

8 valores con rango desde 327.1 a 401.7

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para MEZCLA machos

Recuento	8
Promedio	353.9
Desviación estándar	30.2468
Coef. de variación	8.54672%
Mínimo	327.1
Máximo	401.7
Rango	74.6
Sesgo estandarizado	0.960128
Curtosis estandarizada	-0.609213

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	327.1	-0.68799
8	327.7	-0.66101
6	329.6	-0.575573
7	336.5	-0.265303
5	348.3	0.265303
3	365.8	1.05222
1	394.5	2.34276
2	401.7	2.66652

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA hembras

Datos/Variable: MEZCLA hembras

8 valores con rango desde 138.8 a 200.9

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para MEZCLA hembras

Recuento	8
Promedio	165.95
Desviación estándar	20.4611
Coef. de variación	12.3297%
Mínimo	138.8
Máximo	200.9
Rango	62.1
Sesgo estandarizado	0.402359
Curtosis estandarizada	-0.095475

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	138.8	-1.01697
6	142.7	-0.854088
5	160.3	-0.119029
2	162.3	-0.0355
8	164.0	0.0355
1	175.7	0.524147
3	182.9	0.824853
4	200.9	1.57662

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA machos

Datos/Variable: SACARINA machos

8 valores con rango desde 297.0 a 460.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para SACARINA machos

Recuento	7
Promedio	343.357
Desviación estándar	29.1686
Coef. de variación	8.49513%
Mínimo	297.0
Máximo	375.5
Rango	78.5
Sesgo estandarizado	-0.417163
Curtosis estandarizada	-0.533952

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
1	297.0	-0.860875
5	322.4	-0.297313
2	334.5	-0.0288438
8	335.8	0.0
7	366.2	0.6745
4	372.1	0.805406
6	375.5	0.880844
3	X 460.0	

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA hembras

Datos/Variable: SACARINA hembras

8 valores con rango desde 143.0 a 203.7

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SACARINA hembras

Recuento	8
Promedio	171.687
Desviación estándar	20.4122
Coef. de variación	11.8892%
Mínimo	143.0
Máximo	203.7
Rango	60.7
Sesgo estandarizado	0.186093
Curtosis estandarizada	-0.571291

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
6	143.0	-1.26469
8	153.5	-0.79875
7	158.3	-0.58575
4	163.3	-0.363875
1	179.7	0.363875
5	183.3	0.523625
3	188.7	0.76325
2	203.7	1.42888

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA machos

Datos/Variable: SUCRALOSA machos

8 valores con rango desde 313.5 a 399.5

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SUCRALOSA machos

Recuento	8
Promedio	357.6
Desviación estándar	33.5354
Coef. de variación	9.37792%
Mínimo	313.5
Máximo	399.5
Rango	86.0
Sesgo estandarizado	-0.166383
Curtosis estandarizada	-0.999111

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
2	313.5	-1.06092
1	317.3	-0.972992
8	334.8	-0.568061
5	352.4	-0.160816
6	366.3	0.160816
7	385.7	0.609711
4	391.3	0.739289
3	399.5	0.929028

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA hembras

Datos/Variable: SUCRALOSA hembras

8 valores con rango desde 145.3 a 204.5

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SUCRALOSA hembras

Recuento	8
Promedio	166.313
Desviación estándar	19.3618
Coef. de variación	11.6418%
Mínimo	145.3
Máximo	204.5
Rango	59.2
Sesgo estandarizado	1.27453
Curtosis estandarizada	0.680305

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	145.3	-1.0393
5	148.2	-0.866576
2	155.25	-0.446689
7	160.0	-0.163786
6	165.5	0.163786
1	170.85	0.482424
8	180.9	1.08099
3	204.5	2.48657

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA machos

Datos/Variable: STEVIA machos

8 valores con rango desde 326.4 a 450.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para STEVIA machos

Recuento	7
Promedio	357.529
Desviación estándar	30.0732
Coef. de variación	8.4114%
Mínimo	326.4
Máximo	400.7
Rango	74.3
Sesgo estandarizado	1.01137
Curtosis estandarizada	-0.526469

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
3	326.4	-1.23843
6	336.6	-0.6745
8	341.4	-0.409123
7	348.8	0.0
1	349.4	0.0331721
5	399.4	2.79752
4	400.7	2.86939
2	X 450.0	

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA hembras

Datos/Variable: STEVIA hembras

8 valores con rango desde 142.1 a 192.6

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para STEVIA hembras

Recuento	8
Promedio	168.238
Desviación estándar	14.6355
Coef. de variación	8.69929%
Mínimo	142.1
Máximo	192.6
Rango	50.5
Sesgo estandarizado	-0.192645
Curtosis estandarizada	0.796129

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	142.1	-2.92098
5	159.4	-0.99224
6	165.1	-0.35676
8	166.6	-0.189529
7	170.0	0.189529
2	170.8	0.278719
3	179.3	1.22636
1	192.6	2.70915

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL machos

Datos/Variable: CONTROL machos

8 valores con rango desde 320.8 a 396.6

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para CONTROL machos

Recuento	8
Promedio	355.9
Desviación estándar	25.3445
Coef. de variación	7.12124%
Mínimo	320.8
Máximo	396.6
Rango	75.8
Sesgo estandarizado	0.444296
Curtosis estandarizada	-0.439908

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
2	320.8	-1.33119
1	338.4	-0.547614
8	338.9	-0.525353
6	343.9	-0.302746
7	357.5	0.302746
4	368.7	0.801386
5	382.4	1.41133
3	396.6	2.04353

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL hembras

Datos/Variable: CONTROL hembras

8 valores con rango desde 113.3 a 197.2

Número de valores actualmente excluidos: 2

Resumen Estadístico para CONTROL hembras

Recuento	6
Promedio	185.133
Desviación estándar	11.0629
Coef. de variación	5.97561%
Mínimo	170.7
Máximo	197.2
Rango	26.5
Sesgo estandarizado	-0.264899
Curtosis estandarizada	-0.853308

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	X 113.3	
8	X 136.1	
5	170.7	-0.989479
6	173.9	-0.785856
1	186.0	-0.015908
2	186.5	0.015908
4	196.5	0.652229
3	197.2	0.696771

INGESTA ACUMULADA DE ALIMENTO (g)

Identificación de Valores Atípicos - ACE K machos

Datos/Variable: ACE K machos

8 valores con rango desde 2087.0 a 2445.8

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ACE K machos

Recuento	8
Promedio	2300.47
Desviación estándar	127.056
Coef. de variación	5.52305%
Mínimo	2087.0
Máximo	2445.8
Rango	358.8
Sesgo estandarizado	-0.813111
Curtosis estandarizada	-0.576638

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	2087.0	-2.95039
4	2184.9	-1.87842
2	2196.0	-1.75688
5	2345.6	-0.118804
3	2367.3	0.118804
6	2386.9	0.333418
1	2390.3	0.370647
7	2445.8	0.978353

Identificación de Valores Atípicos - ASP machos

Datos/Variable: ASP machos

8 valores con rango desde 1911.3 a 2421.9

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ASP machos

Recuento	8
Promedio	2157.97
Desviación estándar	183.328
Coef. de variación	8.49535%
Mínimo	1911.3
Máximo	2421.9
Rango	510.6
Sesgo estandarizado	0.179591
Curtosis estandarizada	-0.860471

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	1911.3	-1.21812
3	1990.4	-0.804855
7	2047.6	-0.506006
6	2052.1	-0.482495
8	2236.8	0.482495
1	2248.6	0.544145
2	2355.1	1.10057
5	2421.9	1.44957

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA machos

Datos/Variable: MEZCLA machos

8 valores con rango desde 2065.1 a 2439.6

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para MEZCLA machos

Recuento	8
Promedio	2256.6
Desviación estándar	135.73
Coef. de variación	6.01482%
Mínimo	2065.1
Máximo	2439.6
Rango	374.5
Sesgo estandarizado	-0.0217134
Curtosis estandarizada	-0.879277

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	2065.1	-1.10305
7	2138.9	-0.679946
4	2140.8	-0.669054
6	2228.5	-0.16626
1	2286.5	0.16626
2	2354.3	0.554965
5	2399.1	0.811808
3	2439.6	1.044

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA machos

Datos/Variable: SACARINA machos

8 valores con rango desde 2132.8 a 2884.6

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para SACARINA machos

Recuento	7
Promedio	2291.37
Desviación estándar	116.48
Coef. de variación	5.08342%
Mínimo	2132.8
Máximo	2439.1
Rango	306.3
Sesgo estandarizado	0.175793
Curtosis estandarizada	-0.86044

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
5	2132.8	-0.6745
1	2214.3	-0.151955
8	2232.9	-0.0326991
2	2238.0	0.0
6	2357.5	0.766186
7	2425.0	1.19897
4	2439.1	1.28937
3	X 2884.6	

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA machos

Datos/Variable: SUCRALOSA machos

8 valores con rango desde 2074.2 a 2646.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para SUCRALOSA machos

Recuento	7
Promedio	2263.87
Desviación estándar	106.999
Coef. de variación	4.72635%
Mínimo	2074.2
Máximo	2380.9
Rango	306.7
Sesgo estandarizado	-1.08956
Curtosis estandarizada	0.16362

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	2074.2	-3.02176
2	2172.1	-1.76398
1	2256.9	-0.6745
5	2309.4	0.0
4	2310.1	0.00899333
6	2343.5	0.438104
7	2380.9	0.918605
3 X	2646.0	

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA machos

Datos/Variable: STEVIA machos

8 valores con rango desde 2177.4 a 2734.3

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para STEVIA machos

Recuento	8
Promedio	2418.9
Desviación estándar	178.674
Coef. de variación	7.3866%
Mínimo	2177.4
Máximo	2734.3
Rango	556.9
Sesgo estandarizado	0.47166
Curtosis estandarizada	0.000488831

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	2177.4	-1.57618
6	2245.7	-1.15795
1	2299.7	-0.827281
3	2393.5	-0.252899
4	2476.1	0.252899
8	2504.5	0.426806
5	2520.0	0.521719
2	2734.3	1.83398

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL machos

Datos/Variable: CONTROL machos

8 valores con rango desde 2278.9 a 2498.9

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para CONTROL machos

Recuento	7
Promedio	2425.21
Desviación estándar	43.7925
Coef. de variación	1.80572%
Mínimo	2356.8
Máximo	2498.9
Rango	142.1
Sesgo estandarizado	0.204968
Curtosis estandarizada	0.64957

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
2 X	2278.9	
6	2356.8	-2.62586
7	2399.3	-1.09291
3	2410.9	-0.6745
4	2429.6	0.0
5	2436.4	0.245273
8	2444.6	0.541043
1	2498.9	2.49962

Identificación de Valores Atípicos - ACE K hembras

Datos/Variable: ACE K hembras

8 valores con rango desde 1553.8 a 1953.6

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ACE K hembras

Recuento	8
Promedio	1792.43
Desviación estándar	142.334
Coef. de variación	7.94084%
Mínimo	1553.8
Máximo	1953.6
Rango	399.8
Sesgo estandarizado	-0.613602
Curtosis estandarizada	-0.399077

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
5	1553.8	-1.31187
3	1644.7	-0.822745
7	1746.2	-0.27658
8	1787.0	-0.0570379
4	1808.2	0.0570379
6	1905.9	0.582755
1	1940.0	0.766245
2	1953.6	0.839426

Identificación de Valores Atípicos - ASP hembras

Datos/Variable: ASP hembras

8 valores con rango desde 1395.9 a 1882.8

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ASP hembras

Recuento	8
Promedio	1662.4
Desviación estándar	149.651
Coef. de variación	9.00213%
Mínimo	1395.9
Máximo	1882.8
Rango	486.9
Sesgo estandarizado	-0.543324
Curtosis estandarizada	0.312937

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	1395.9	-2.3968
6	1532.4	-1.26572
1	1627.4	-0.47853
8	1674.0	-0.0923916
4	1696.3	0.0923916
3	1700.2	0.124708
5	1790.2	0.87047
2	1882.8	1.63778

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA hembras

Datos/Variable: MEZCLA hembras

8 valores con rango desde 1446.3 a 1955.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para MEZCLA hembras

Recuento	8
Promedio	1666.05
Desviación estándar	161.01
Coef. de variación	9.66419%
Mínimo	1446.3
Máximo	1955.0
Rango	508.7
Sesgo estandarizado	0.743424
Curtosis estandarizada	0.130235

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
6	1446.3	-1.73742
5	1547.0	-0.841345
2	1585.3	-0.500536
7	1591.0	-0.449815
1	1692.1	0.449815
8	1698.6	0.507655
3	1813.1	1.52652
4	1955.0	2.78921

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA hembras

Datos/Variable: SACARINA hembras

8 valores con rango desde 1474.8 a 1928.2

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SACARINA hembras

Recuento	8
Promedio	1682.59
Desviación estándar	146.274
Coef. de variación	8.69341%
Mínimo	1474.8
Máximo	1928.2
Rango	453.4
Sesgo estandarizado	0.176341
Curtosis estandarizada	-0.168384

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
6	1474.8	-1.74158
4	1537.0	-1.28728
8	1575.9	-1.00317
7	1706.7	-0.0478395
3	1719.8	0.0478395
5	1757.7	0.324651
1	1760.6	0.345832
2	1928.2	1.56994

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA hembras

Datos/Variable: SUCRALOSA hembras

8 valores con rango desde 1379.2 a 1936.7

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para SUCRALOSA hembras

Recuento	7
Promedio	1738.6
Desviación estándar	103.55
Coef. de variación	5.95593%
Mínimo	1632.8
Máximo	1936.7
Rango	303.9
Sesgo estandarizado	1.33365
Curtosis estandarizada	0.932541

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	X 1379.2	
2	1632.8	-0.790932
6	1644.4	-0.6745
4	1705.4	-0.0622307
5	1711.6	0.0
8	1744.5	0.330224
1	1794.8	0.835095
3	1936.7	2.25937

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA hembras

Datos/Variable: STEVIA hembras

8 valores con rango desde 1571.2 a 1910.7

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para STEVIA hembras

Recuento	8
Promedio	1747.67
Desviación estándar	112.69
Coef. de variación	6.44797%
Mínimo	1571.2
Máximo	1910.7
Rango	339.5
Sesgo estandarizado	-0.418954
Curtosis estandarizada	-0.243529

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	1571.2	-2.12978
2	1611.9	-1.70151
3	1716.1	-0.605051
7	1770.9	-0.0284111
6	1776.3	0.0284111
8	1780.0	0.0673448
1	1844.3	0.743949
5	1910.7	1.44265

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL hembras

Datos/Variable: CONTROL hembras

8 valores con rango desde 1399.7 a 1852.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para CONTROL hembras

Recuento	8
Promedio	1649.38
Desviación estándar	163.83
Coef. de variación	9.93286%
Mínimo	1399.7
Máximo	1852.0
Rango	452.3
Sesgo estandarizado	-0.412996
Curtosis estandarizada	-0.545385

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	1399.7	-1.48771
8	1451.7	-1.19628
5	1592.7	-0.406045
6	1649.8	-0.0860289
1	1680.5	0.0860289
2	1735.2	0.392594
4	1833.4	0.942955
3	1852.0	1.0472

CONSUMO ACUMULADA DE BEBIDA CON EDULCORANTE (mL)**Identificación de Valores Atípicos - ACE K machos**

Datos/Variable: ACE K machos

8 valores con rango desde 3712.0 a 6715.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ACE K machos

Recuento	8
Promedio	4984.13
Desviación estándar	1070.71
Coef. de variación	21.4824%
Mínimo	3712.0
Máximo	6715.0
Rango	3003.0
Sesgo estandarizado	0.61045
Curtosis estandarizada	-0.475278

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
5	3712.0	-0.958453
6	3864.0	-0.822299
1	4431.0	-0.314408
3	4559.0	-0.199752
2	5005.0	0.199752
7	5370.0	0.526701
4	6217.0	1.2854
8	6715.0	1.73149

Identificación de Valores Atípicos - ASP machos

Datos/Variable: ASP machos

8 valores con rango desde 3097.0 a 4115.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ASP machos

Recuento	8
Promedio	3727.5
Desviación estándar	377.144
Coef. de variación	10.1179%
Mínimo	3097.0
Máximo	4115.0
Rango	1018.0
Sesgo estandarizado	-0.901752
Curtosis estandarizada	-0.388677

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
3	3097.0	-1.99862
2	3268.0	-1.52592
6	3613.0	-0.572219
5	3808.0	-0.0331721
7	3832.0	0.0331721
4	3986.0	0.458881
8	4101.0	0.776781
1	4115.0	0.815482

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA machos

Datos/Variable: MEZCLA machos

8 valores con rango desde 4116.0 a 6651.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para MEZCLA machos

Recuento	8
Promedio	5090.5
Desviación estándar	858.017
Coef. de variación	16.8553%
Mínimo	4116.0
Máximo	6651.0
Rango	2535.0
Sesgo estandarizado	0.792509
Curtosis estandarizada	0.0510496

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	4116.0	-0.969274
5	4189.0	-0.894557
2	4474.0	-0.602854
8	5045.0	-0.0184234
3	5081.0	0.0184234
1	5376.0	0.320362
6	5792.0	0.746146
7	6651.0	1.62535

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA machos

Datos/Variable: SACARINA machos

8 valores con rango desde 4217.0 a 6565.0

Número de valores actualmente excluidos: 2

Resumen Estadístico para SACARINA machos

Recuento	6
Promedio	4422.5
Desviación estándar	216.956
Coef. de variación	4.90573%
Mínimo	4217.0
Máximo	4746.0
Rango	529.0
Sesgo estandarizado	0.588157
Curtosis estandarizada	-0.726823

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	4217.0	-0.745629
2	4246.0	-0.603371
6	4259.0	-0.5396
7	4479.0	0.5396
1	4588.0	1.07429
4	4746.0	1.84936
3	X 6393.0	
5	X 6565.0	

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA machos

Datos/Variable: SUCRALOSA machos

8 valores con rango desde 3386.0 a 5433.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SUCRALOSA machos

Recuento	8
Promedio	4370.13
Desviación estándar	822.23
Coef. de variación	18.8148%
Mínimo	3386.0
Máximo	5433.0
Rango	2047.0
Sesgo estandarizado	0.202741
Curtosis estandarizada	-1.17636

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	3386.0	-0.866443
2	3631.0	-0.625901
6	3646.0	-0.611174
8	3928.0	-0.334305
3	4609.0	0.334305
7	5005.0	0.723099
5	5323.0	1.03531
1	5433.0	1.14331

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA machos

Datos/Variable: STEVIA machos

8 valores con rango desde 4122.0 a 6744.0

Número de valores actualmente excluidos: 2

Resumen Estadístico para STEVIA machos

Recuento	6
Promedio	4647.33
Desviación estándar	344.626
Coef. de variación	7.41556%
Mínimo	4122.0
Máximo	5062.0
Rango	940.0
Sesgo estandarizado	-0.365985
Curtosis estandarizada	-0.20711

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	4122.0	-1.35678
5	4445.0	-0.518846
1	4600.0	-0.11674
3	4690.0	0.11674
8	4965.0	0.830154
4	5062.0	1.08179
2	X 6153.0	
6	X 6744.0	

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL machos

Datos/Variable: CONTROL machos

8 valores con rango desde 3280.0 a 5817.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para CONTROL machos

Recuento	8
Promedio	4316.38
Desviación estándar	873.807
Coef. de variación	20.244%
Mínimo	3280.0
Máximo	5817.0
Rango	2537.0
Sesgo estandarizado	0.462231
Curtosis estandarizada	-0.286165

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
2	3280.0	-1.1306
4	3352.0	-1.05554
3	3642.0	-0.753209
6	4232.0	-0.138132
5	4497.0	0.138132
7	4775.0	0.427948
1	4936.0	0.595791
8	5817.0	1.51424

Identificación de Valores Atípicos - ACE K hembras

Datos/Variable: ACE K hembras

8 valores con rango desde 4527.0 a 8793.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ACE K hembras

Recuento	8
Promedio	6303.13
Desviación estándar	1246.9
Coef. de variación	19.7822%
Mínimo	4527.0
Máximo	8793.0
Rango	4266.0
Sesgo estandarizado	1.0686
Curtosis estandarizada	1.19462

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
4	4527.0	-1.69318
3	5445.0	-0.675608
7	5951.0	-0.114726
5	5973.0	-0.0903398
6	6136.0	0.0903398
1	6662.0	0.673392
2	6938.0	0.979327
8	8793.0	3.03553

Identificación de Valores Atípicos - ASP hembras

Datos/Variable: ASP hembras

8 valores con rango desde 2585.0 a 7116.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para ASP hembras

Recuento	8
Promedio	4051.88
Desviación estándar	1507.49
Coef. de variación	37.2048%
Mínimo	2585.0
Máximo	7116.0
Rango	4531.0
Sesgo estandarizado	1.42599
Curtosis estandarizada	0.961206

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
1	2585.0	-0.81569
3	2606.0	-0.801332
7	3023.0	-0.516216
6	3659.0	-0.0813639
4	3897.0	0.0813639
8	4655.0	0.599632
2	4874.0	0.749368
5	7116.0	2.28229

Identificación de Valores Atípicos - MEZCLA hembras

Datos/Variable: MEZCLA hembras

8 valores con rango desde 4628.0 a 11693.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para MEZCLA hembras

Recuento	7
Promedio	6093.71
Desviación estándar	1729.98
Coef. de variación	28.3896%
Mínimo	4628.0
Máximo	9578.0
Rango	4950.0
Sesgo estandarizado	1.75021
Curtosis estandarizada	1.50532

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
2	4628.0	-0.707472
8	4674.0	-0.6745
4	5199.0	-0.298185
3	5615.0	0.0
6	6079.0	0.332591
1	6883.0	0.908891
7	9578.0	2.84064
5	X 11693.0	

Identificación de Valores Atípicos - SACARINA hembras

Datos/Variable: SACARINA hembras

8 valores con rango desde 3725.0 a 7322.0

Número de valores actualmente excluidos: 1

Resumen Estadístico para SACARINA hembras

Recuento	7
Promedio	4310.14
Desviación estándar	553.861
Coef. de variación	12.8502%
Mínimo	3725.0
Máximo	5316.0
Rango	1591.0
Sesgo estandarizado	1.17601
Curtosis estandarizada	0.339072

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
8	3725.0	-1.18172
4	3913.0	-0.6745
5	3967.0	-0.528808
3	4163.0	0.0
1	4343.0	0.48564
6	4744.0	1.56754
2	5316.0	3.11079
7	X 7322.0	

Identificación de Valores Atípicos - SUCRALOSA hembras

Datos/Variable: SUCRALOSA hembras

8 valores con rango desde 2507.0 a 5400.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para SUCRALOSA hembras

Recuento	8
Promedio	3963.63
Desviación estándar	956.641
Coef. de variación	24.1355%
Mínimo	2507.0
Máximo	5400.0
Rango	2893.0
Sesgo estandarizado	0.188642
Curtosis estandarizada	-0.311821

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
7	2507.0	-1.65111
8	3287.0	-0.714141
6	3353.0	-0.634859
1	3804.0	-0.0930966
2	3959.0	0.0930966
3	4324.0	0.531552
5	5075.0	1.43369
4	5400.0	1.82409

Identificación de Valores Atípicos - STEVIA hembras

Datos/Variable: STEVIA hembras

8 valores con rango desde 3676.0 a 7611.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para STEVIA hembras

Recuento	8
Promedio	5237.0
Desviación estándar	1426.81
Coef. de variación	27.2449%
Mínimo	3676.0
Máximo	7611.0
Rango	3935.0
Sesgo estandarizado	0.785079
Curtosis estandarizada	-0.48863

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
6	3676.0	-0.75902
2	3855.0	-0.640361
3	4378.0	-0.293664
7	4525.0	-0.196218
4	5117.0	0.196218
1	5890.0	0.708639
5	6844.0	1.34105
8	7611.0	1.84949

Identificación de Valores Atípicos - CONTROL hembras

Datos/Variable: CONTROL hembras

8 valores con rango desde 2654.0 a 4252.0

Número de valores actualmente excluidos: 0

Resumen Estadístico para CONTROL hembras

Recuento	8
Promedio	3331.75
Desviación estándar	593.544
Coef. de variación	17.8148%
Mínimo	2654.0
Máximo	4252.0
Rango	1598.0
Sesgo estandarizado	0.628499
Curtosis estandarizada	-0.555485

Valores Ordenados

Fila	Valor	Valor-Z DAM
1	2654.0	-0.902609
2	2722.0	-0.807154
4	2911.0	-0.541846
8	3182.0	-0.161431
5	3412.0	0.161431
7	3433.0	0.190909
6	4088.0	1.11036
3	4252.0	1.34058

ANEXO 5

Verificación gráfica de la homocedasticidad y por el *test* de Levene de los datos de incremento de masa corporal, consumo acumulado de bebida y en machos y hembras e ingesta acumulada de alimento y en machos y hembras

Prueba de homogeneidad de varianzas: Incremento masa *versus* edulcorante, sexo

Null hypothesis All variances are equal
 Alternative hypothesis At least one variance is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

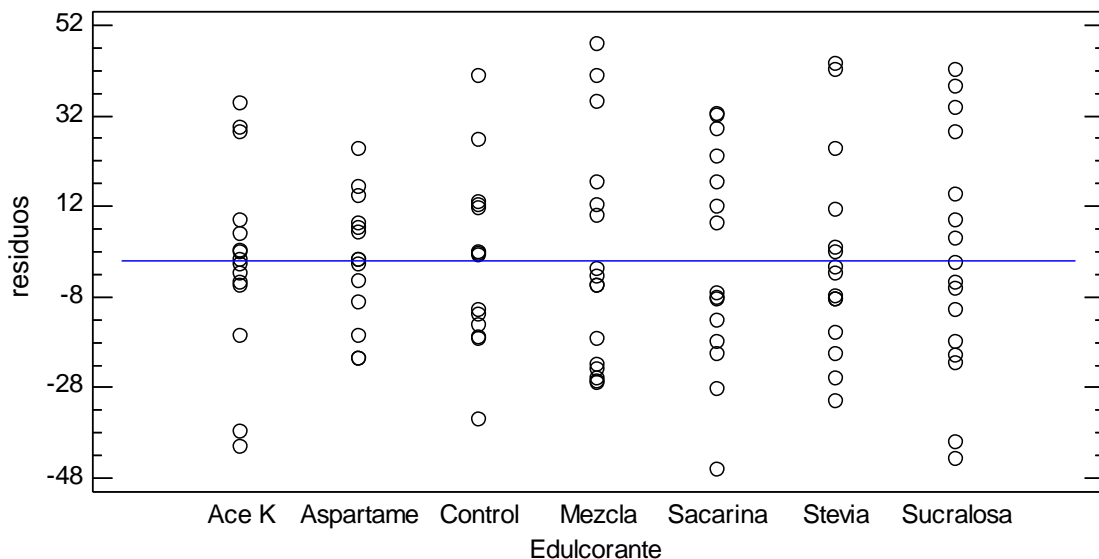
Edulcorante	Sexo	N	StDev	CI
Acesulfame	Hembra	7	5.4086	(1.4785, 33.895)
Acesulfame	Macho	8	29.8817	(14.4641, 97.098)
Aspartame	Hembra	8	18.3026	(10.2396, 51.456)
Aspartame	Macho	6	6.4803	(2.0712, 39.417)
Control	Hembra	6	11.0629	(3.8144, 62.377)
Control	Macho	8	25.3445	(10.3503, 97.612)
Mezcla ace:asp	Hembra	8	20.4611	(8.4249, 78.160)
Mezcla ace:asp	Macho	8	30.2468	(9.2954, 154.804)
Sacarina	Hembra	8	20.4122	(9.6966, 67.585)
Sacarina	Macho	7	29.1686	(11.4666, 127.107)
Stevia	Hembra	8	14.6355	(4.8507, 69.455)
Stevia	Macho	7	30.0732	(6.0657, 255.417)
Sucralosa	Hembra	8	19.3594	(5.2269, 112.780)
Sucralosa	Macho	8	33.5354	(18.1120, 97.663)

Individual confidence level = 99.6429%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0.002
Levene	2.12	0.040

Gráfico de residuos para Incremento acumulado de masa corporal



Prueba de homogeneidad de varianzas: Bebida acumulada *versus* edulcorante, sexo

Method

Null hypothesis All variances are equal
 Alternative hypothesis At least one variance is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

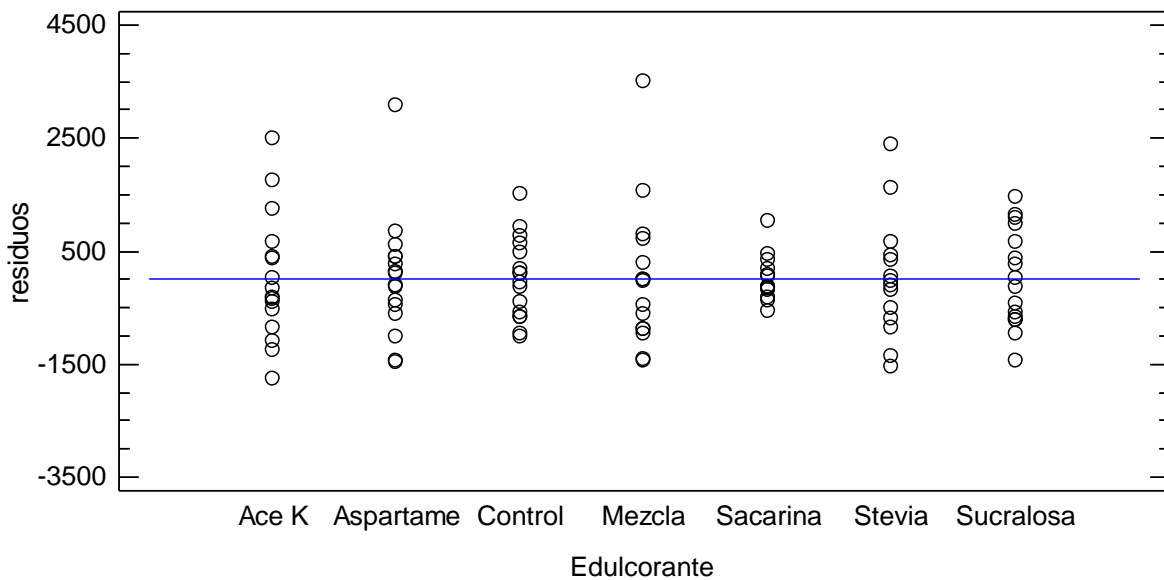
Edulcorante	Sexo	N	StDev	CI
Acesulfame	Hembra	8	1255.76	(341.365, 7265.8)
Acesulfame	Macho	8	1070.71	(436.903, 4127.1)
Aspartame	Hembra	8	1507.49	(386.092, 9257.8)
Aspartame	Macho	8	377.14	(127.150, 1759.5)
Control	Hembra	8	593.54	(237.413, 2334.0)
Control	Macho	8	873.81	(375.772, 3195.9)
Mezcla ace:asp	Hembra	7	1729.98	(243.335, 21069.3)
Mezcla ace:asp	Macho	8	858.02	(306.552, 3777.3)
Sacarina	Hembra	7	553.86	(108.439, 4846.1)
Sacarina	Macho	6	216.96	(49.293, 1856.4)
Stevia	Hembra	8	1426.81	(532.666, 6011.3)
Stevia	Macho	6	344.63	(102.213, 2259.0)
Sucralosa	Hembra	8	956.64	(402.197, 3578.9)
Sucralosa	Macho	8	822.23	(464.930, 2287.1)

Individual confidence level = 99.6429%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0.073
Levene	1.70	0.075

Gráfico de residuos para bebida acumulada



Prueba de homogeneidad de varianzas: Bebida acumulada machos *versus* edulcorante

Method

Null hypothesis All variances are equal
 Alternative hypothesis At least one variance is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

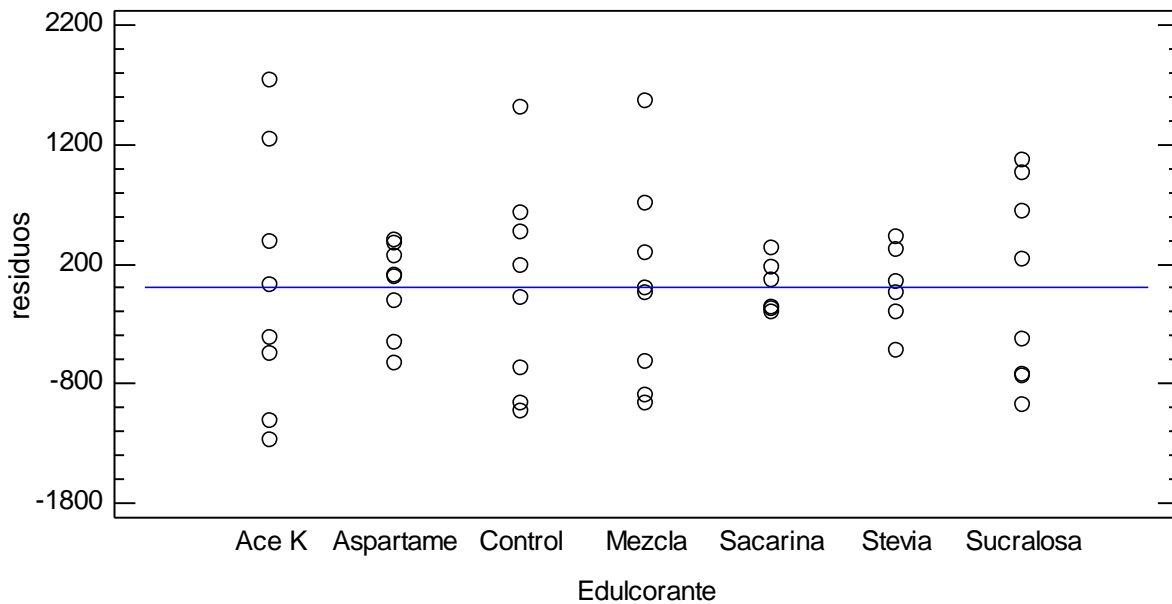
Edulcorante	N	StDev	CI
Acesulfame	8	1070.71	(486.884, 3547.48)
Aspartame	8	377.14	(144.859, 1479.36)
Control	8	873.81	(416.226, 2763.79)
Mezcla ace:asp	8	858.02	(346.911, 3197.27)
Sacarina	6	216.96	(61.266, 1392.72)
Stevia	6	344.63	(122.414, 1758.74)
Sucralosa	8	822.23	(498.937, 2041.48)

Individual confidence level = 99.2857%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0.037
Levene	3.04	0.014

Gráfico de residuos para bebida acumulada en machos



Prueba de homogeneidad de varianzas: Bebida acumulada hembras *versus* edulcorante

Method

Null hypothesis All variances are equal
 Alternative hypothesis At least one variance is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

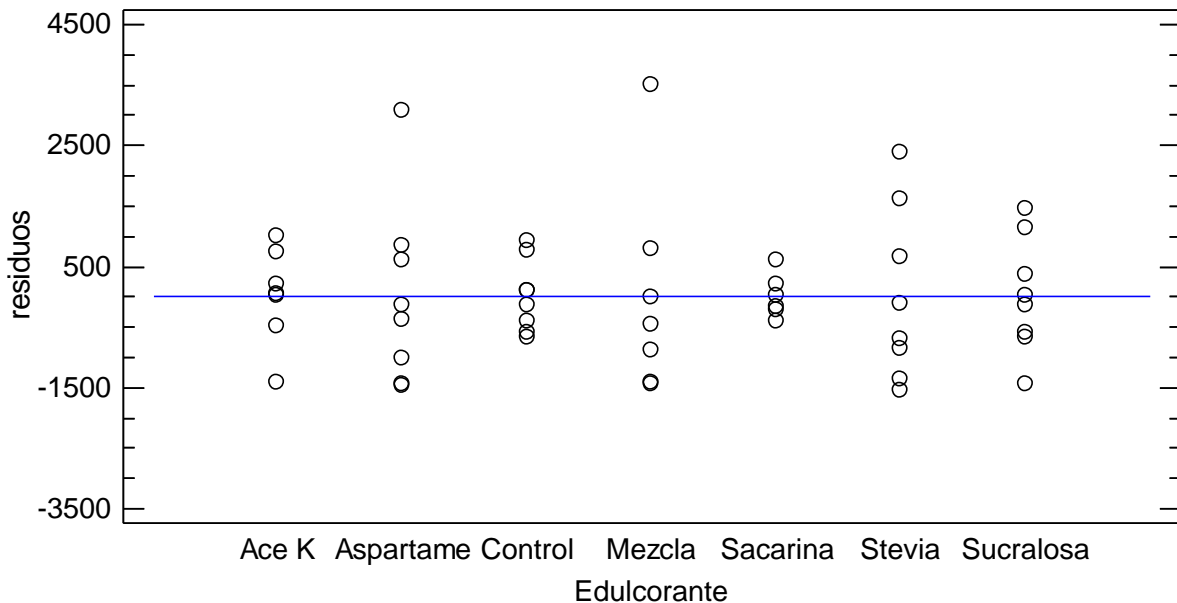
Edulcorante	N	StDev	CI
Acesulfame	7	795.63	(260.791, 3942.4)
Aspartame	8	1507.49	(454.067, 7540.4)
Control	8	593.54	(265.183, 2001.5)
Mezcla ace:asp	7	1729.98	(312.885, 15535.7)
Sacarina	6	363.37	(81.485, 2937.4)
Stevia	8	1426.81	(599.738, 5114.2)
Sucralosa	8	956.64	(446.662, 3086.9)

Individual confidence level = 99.2857%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0.180
Levene	1.45	0.216

Gráfico de residuos para bebida acumulada en hembras



Prueba de homogeneidad de varianzas: Alimento acumulado versus edulcorante, sexo

Method

Null hypothesis All variances are equal
 Alternative hypothesis At least one variance is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

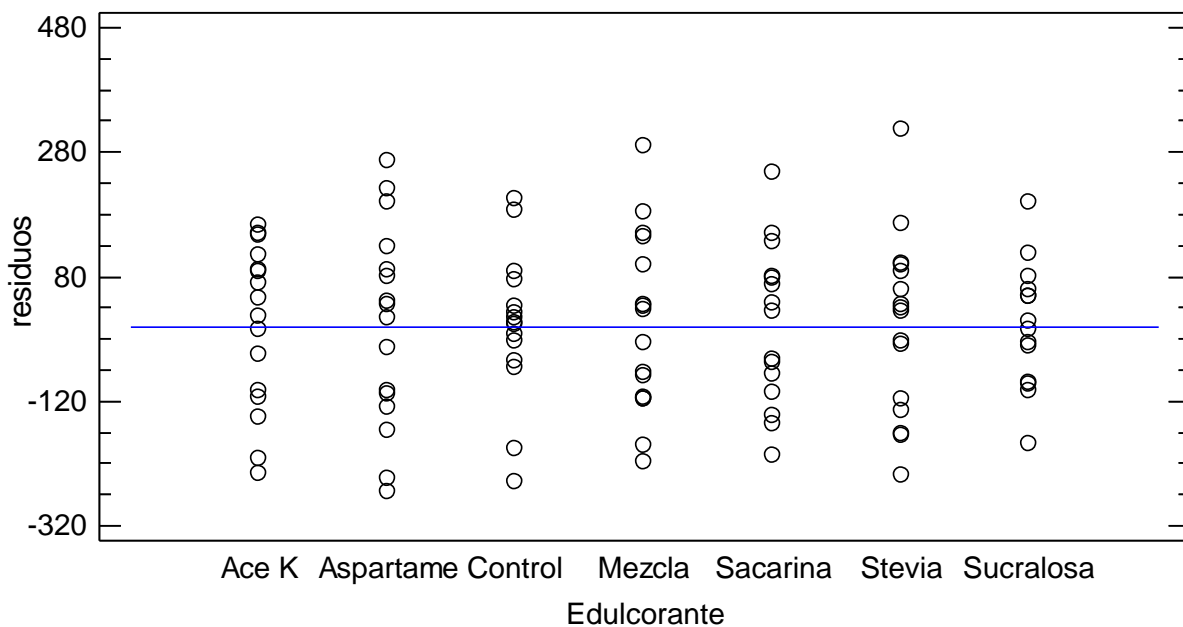
Edulcorante	Sexo	N	StDev	CI
Acesulfame	Hembra	8	145.143	(55.3415, 598.732)
Acesulfame	Macho	8	127.056	(48.0743, 528.165)
Aspartame	Hembra	8	159.318	(58.2776, 685.046)
Aspartame	Macho	8	183.328	(94.2337, 560.970)
Control	Hembra	8	163.830	(72.9097, 579.018)
Control	Macho	7	43.793	(12.7604, 257.458)
Mezcla ace:asp	Hembra	8	161.010	(54.2059, 752.229)
Mezcla ace:asp	Macho	8	135.730	(71.9898, 402.508)
Sacarina	Hembra	8	146.274	(62.1777, 541.242)
Sacarina	Macho	7	116.480	(49.6731, 467.900)
Stevia	Hembra	8	112.690	(44.9968, 443.891)
Stevia	Macho	8	178.674	(72.1464, 695.986)
Sucralosa	Hembra	7	103.550	(21.0756, 871.543)
Sucralosa	Macho	7	106.999	(22.6575, 865.593)

Individual confidence level = 99.6429%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0.118
Levene	1.09	0.375

Gráfico de residuos para alimento acumulado



ANEXO 6

Pruebas *post hoc* - Comparaciones múltiples por el *test* de Duncan al 95 por ciento de confianza - * indica una diferencia significativa

Pruebas de rangos múltiples para bebida acumulada por edulcorante

Contraste	Sig.	Diferencia	Contraste	Sig.	Diferencia
Acesulfame - Aspartame	*	1753.94	Control - Mezcla ace:asp	*	-1768.04
Acesulfame - Control	*	1819.56	Control - Sacarina		-542.259
Acesulfame - Mezcla ace:asp		51.5179	Control - Stevia	*	-1118.1
Acesulfame - Sacarina	*	1277.3	Control - Sucralosa		-342.813
Acesulfame - Stevia		701.458	Mezcla ace:asp - Sacarina	*	1225.79
Acesulfame - Sucralosa	*	1476.75	Mezcla ace:asp - Stevia		649.94
Aspartame - Control		65.625	Mezcla ace:asp - Sucralosa	*	1425.23
Aspartame - Mezcla ace:asp	*	-1702.42	Sacarina - Stevia		-575.845
Aspartame - Sacarina		-476.634	Sacarina - Sucralosa		199.446
Aspartame - Stevia	*	-1052.48	Stevia - Sucralosa	*	775.292
Aspartame - Sucralosa		-277.188	Control - Mezcla ace:asp	*	-1768.04

Pruebas de rangos múltiples para alimento acumulado en machos y hembras

Contraste	Sig.	Diferencia	Contraste	Sig.	Diferencia
Acesulfame - Aspartame	*	136.263	Control - Mezcla ace:asp		75.9696
Acesulfame - Control		9.15536	Control - Sacarina		50.3152
Acesulfame - Mezcla ace:asp		85.125	Control - Stevia		-45.9929
Acesulfame - Sacarina		59.4705	Control - Sucralosa		36.0589
Acesulfame - Stevia		-36.8375	Mezcla ace:asp - Sacarina		-25.6545
Acesulfame - Sucralosa		45.2143	Mezcla ace:asp - Stevia	*	-121.962
Aspartame - Control	*	-127.107	Mezcla ace:asp - Sucralosa		-39.9107
Aspartame - Mezcla ace:asp		-51.1375	Sacarina - Stevia		-96.308
Aspartame - Sacarina		-76.792	Sacarina - Sucralosa		-14.2562
Aspartame - Stevia	*	-173.1	Stevia - Sucralosa		82.0518
Aspartame - Sucralosa		-91.0482	Control - Mezcla ace:asp		75.9696

Pruebas de rangos múltiples para Bebida acumulada en hembras por edulcorante

Contraste	Sig.	Diferencia	Contraste	Sig.	Diferencia
Acesulfame - Aspartame	*	1895.55	Control - Mezcla ace:asp	*	-2761.96
Acesulfame - Control	*	2615.68	Control - Sacarina		-810.75
Acesulfame - Mezcla ace:asp		-146.286	Control - Stevia	*	-1905.25
Acesulfame - Sacarina	*	1804.93	Control - Sucralosa		-631.875
Acesulfame - Stevia		710.429	Mezcla ace:asp - Sacarina	*	1951.21
Acesulfame - Sucralosa	*	1983.8	Mezcla ace:asp - Stevia		856.714
Aspartame - Control		720.125	Mezcla ace:asp - Sucralosa	*	2130.09
Aspartame - Mezcla ace:asp	*	-2041.84	Sacarina - Stevia		-1094.5
Aspartame - Sacarina		-90.625	Sacarina - Sucralosa		178.875
Aspartame - Stevia		-1185.13	Stevia - Sucralosa		1273.38
Aspartame - Sucralosa		88.25	Control - Mezcla ace:asp	*	-2761.96

ANEXO 7

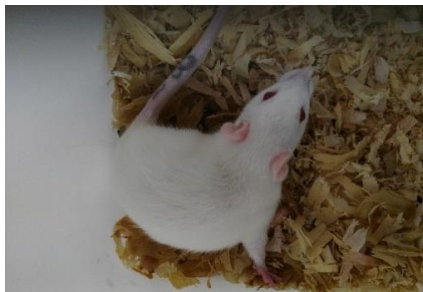
Acervo fotográfico – Rata hembra número 118 – Grupo: mezcla comercial
acesulfame K:aspartame Canderel®



Semana 0



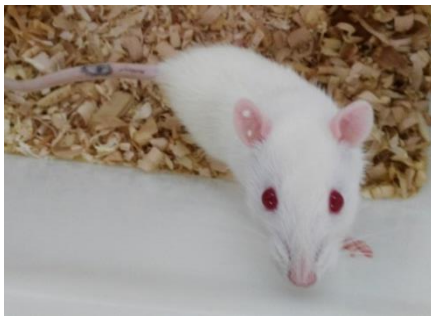
Semana 1



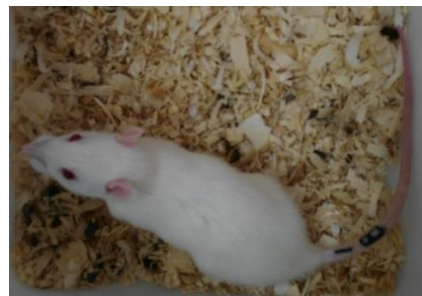
Semana 2



Semana 3



Semana 4



Semana 5



Semana 6



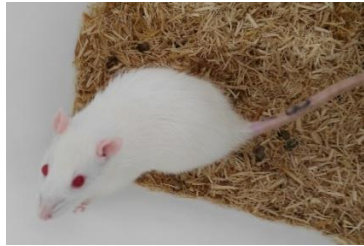
Semana 7



Semana 8



Semana 9



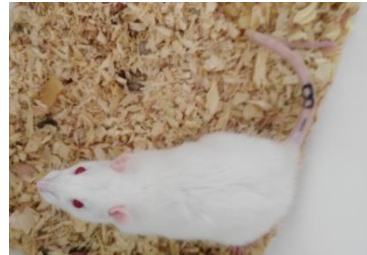
Semana 10



Semana 11



Semana 12



Semana 13



Semana 14



Semana 15



Semana 16



Semana 17

ANEXO 8

Compendio de datos crudos

Los datos de todos los especímenes se encuentran en un disco compacto que acompaña a esta tesis. En seguida se presentan los promedios de cada grupo.

ACE K machos n=8															
̄ Masa del espécimen (g)	46.1	51.5	56.0	60.4	64.9	70.5	75.7	81.1	86.6	93.1	98.5	104.7	109.4	115.3	120.9
SD Masa del espécimen (g) ±	7.7	8.4	8.9	9.8	10.4	12.0	11.8	12.3	12.0	13.1	12.8	13.9	14.1	14.3	15.2
̄ Alimento ingerido (g)	9.1	8.8	10.7	9.7	10.2	11.3	11.1	12.3	13.2	12.7	14.1	14.2	16.0	14.8	15.9
SD Alimento ingerido (g) ±	1.1	1.2	3.5	1.6	2.3	2.1	1.5	1.7	1.9	2.1	3.2	1.8	1.9	2.4	1.6
̄ Bebida consumida (mL)	42	38	42	39	51	37	23	26	29	27	30	28	33	31	34
SD Bebida consumida (mL) ±	20	14	22	21	29	20	8	6	8	6	9	5	6	9	8
̄ Incremento acumulado de la masa (g)	5.4	9.9	14.4	18.8	24.5	29.6	35.1	40.6	47.0	52.4	58.6	63.3	69.2	74.9	79.9
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±	1.1	1.3	2.7	3.0	4.9	4.5	5.0	5.0	6.3	5.9	7.0	7.6	7.9	8.9	9.3
̄ Alimento ingerido acumulado (g)	9.1	17.9	28.5	38.2	48.4	59.8	70.8	83.1	96.3	109.0	123.2	137.4	153.4	168.2	184.1
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±	1.1	2.2	4.9	6.1	8.1	9.1	10.2	10.6	12.2	13.5	16.2	17.4	18.6	20.4	21.3
̄ Bebida consumida acumulada (mL)	42	80	122	161	212	249	272	298	327	353	383	411	444	475	509
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±	20	30	50	70	95	107	105	104	103	103	100	100	101	101	104

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
126.0	130.0	135.7	141.0	146.4	151.6	155.6	162.7	167.0	172.6	178.5	185.0	189.8	195.6	202.3	206.8	211.6	217.2	221.5	226.2
15.7	16.8	17.1	17.2	18.1	19.0	21.9	20.1	21.1	22.1	21.9	21.5	21.8	21.9	21.8	22.2	22.5	22.4	20.9	21.6
15.4	16.9	15.8	16.6	18.3	17.5	16.6	17.9	19.6	19.0	17.3	18.3	18.8	19.8	19.1	19.4	21.0	19.6	21.0	18.7
2.0	2.8	3.2	1.8	2.1	3.4	2.6	2.4	4.7	3.5	4.1	2.5	1.3	1.5	3.3	2.5	2.4	1.4	2.4	3.5
34	37	40	39	44	40	39	39	39	39	37	39	39	39	45	35	43	37	44	43
8	9	10	8	8	13	21	9	9	8	9	7	8	9	9	6	9	6	11	10
83.9	89.6	94.9	100.3	105.5	109.5	116.7	120.9	126.5	132.4	138.9	143.7	149.5	156.2	160.7	165.6	171.1	175.5	180.2	184.7
10.3	10.7	10.8	11.7	12.8	16.0	14.2	15.0	15.7	15.6	15.5	15.7	16.1	15.9	16.4	16.7	16.7	15.3	16.0	16.2
199.5	216.4	232.2	248.8	267.1	284.5	301.1	319.0	338.6	357.6	374.9	393.2	412.0	431.8	450.9	470.3	491.3	510.9	531.8	550.5
22.9	24.9	26.1	27.1	28.8	31.1	31.0	33.2	36.3	39.0	38.6	39.6	40.4	41.5	42.8	44.3	46.2	46.5	48.5	50.9
543	580	620	659	703	744	782	821	860	899	936	975	1014	1053	1097	1132	1175	1212	1257	1299
105	105	109	109	109	112	122	125	130	133	138	142	147	152	156	159	164	168	177	183

36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
230.8	235.3	239.4	243.5	247.1	250.8	254.6	258.8	261.8	265.5	269.3	272.1	276.1	280.7	282.1	285.6	288.1	291.4	293.8	297.4
21.6	21.5	20.0	20.4	19.7	20.0	20.7	20.2	19.7	20.2	21.1	20.1	21.0	21.9	21.0	21.5	21.4	22.2	22.5	23.5
21.0	20.6	20.5	21.9	19.8	22.5	20.5	21.4	20.5	21.4	20.2	20.8	21.0	20.7	20.2	20.4	21.6	21.3	20.0	23.0
2.0	1.5	1.5	2.8	1.2	1.2	2.1	2.4	1.7	2.3	2.1	1.2	3.1	1.8	2.9	1.2	1.7	1.7	4.3	1.7
40	43	43	46	39	48	45	46	46	47	48	46	45	49	46	46	49	49	50	48
13	10	11	13	13	12	11	9	11	17	16	12	18	14	13	17	14	18	13	13
189.2	193.3	197.5	201.0	204.7	208.6	212.7	215.8	219.4	223.2	226.0	230.0	234.6	236.0	239.6	242.0	245.4	247.8	251.3	253.9
15.8	14.6	15.3	14.3	14.9	15.5	15.4	14.7	15.3	16.0	15.1	15.9	17.0	16.5	16.9	16.8	17.5	17.9	19.0	18.0
571.5	592.1	612.6	634.5	654.3	676.8	697.3	718.7	739.2	760.6	780.8	801.6	822.7	843.3	863.5	883.9	905.4	926.7	946.7	969.7
51.1	52.2	53.2	53.7	54.3	55.4	56.1	57.1	58.6	60.7	60.6	61.7	63.6	64.3	64.1	65.0	65.5	66.5	68.1	67.6
1340	1383	1425	1471	1510	1558	1603	1649	1695	1742	1789	1832	1877	1925	1970	2013	2059	2104	2152	2198
191	198	205	212	218	226	233	241	250	265	279	288	288	301	310	325	335	350	361	373

56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
300.0	302.8	304.5	305.8	309.6	310.7	314.2	316.4	318.8	321.0	321.5	322.6	327.1	327.9	330.0	332.1	335.0	335.4	338.1	339.8
22.7	23.2	23.6	22.4	23.5	24.5	25.1	24.6	24.8	24.1	25.4	25.9	25.1	27.2	27.1	25.5	25.6	26.5	27.4	27.3
22.0	22.0	19.8	21.3	21.0	20.7	21.1	20.0	21.2	19.3	21.1	21.5	20.5	20.7	21.4	21.7	19.3	22.0	21.1	19.9
1.9	2.5	1.3	2.7	1.6	2.4	1.3	2.3	1.5	1.7	3.5	1.9	2.0	4.0	2.0	1.1	2.7	2.7	2.1	1.7
51	48	49	50	49	48	43	47	49	48	34	47	45	44	46	46	44	46	46	43
13	11	13	12	11	10	12	13	12	14	16	20	12	13	15	14	15	13	15	17
256.7	258.4	259.8	263.6	264.6	268.2	270.4	272.7	275.0	275.4	276.5	281.0	281.8	284.0	286.1	288.9	289.4	292.0	293.7	294.6
18.5	19.4	18.1	19.1	20.0	20.7	20.4	20.4	19.7	21.4	22.6	21.1	23.2	22.9	21.5	21.8	22.5	23.7	23.6	23.8
991.7	1013.8	1033.6	1054.9	1075.8	1096.5	1117.6	1137.6	1158.8	1178.0	1199.1	1220.6	1241.0	1261.7	1283.1	1304.9	1324.1	1346.1	1367.3	1387.2
68.4	69.7	70.3	72.3	73.7	74.8	75.7	77.3	77.3	78.6	81.3	82.1	83.6	86.2	85.5	85.8	85.7	86.5	87.4	88.2
2248	2295	2341	2389	2437	2485	2528	2575	2624	2672	2706	2753	2798	2842	2888	2934	2978	3023	3069	3112
385	395	403	414	423	431	441	454	465	478	482	500	511	523	536	550	564	576	590	606

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
344.1	345.3	346.4	349.1	350.8	350.9	352.6	353.0	353.5	355.2	354.8	356.8	357.2	357.5	358.1	359.6	359.4	361.1	362.0	364.1
35.0	33.7	32.6	33.1	34.1	31.4	31.8	32.7	31.2	31.9	33.3	35.0	35.8	34.9	39.7	37.6	38.1	38.3	38.0	37.2
18.7	20.2	19.1	19.4	18.8	18.8	19.5	18.7	19.3	17.2	20.3	19.3	18.7	19.0	19.2	17.8	17.9	19.0	19.8	18.9
2.0	2.4	2.6	2.8	2.4	2.3	1.7	2.3	2.1	2.0	5.0	4.9	3.6	4.7	3.4	4.8	5.5	3.9	4.8	3.2
30	36	33	33	33	32	32	30	32	30	35	34	29	29	31	32	33	32	33	34
6	7	5	5	5	6	5	5	6	5	6	6	4	10	4	5	8	7	7	8
294.1	295.2	297.9	299.6	299.7	301.4	301.8	302.3	304.0	303.6	305.6	305.9	306.2	306.9	308.4	308.2	309.9	310.8	312.8	313.4
33.1	32.0	32.7	33.6	31.0	31.3	32.2	30.6	31.3	32.8	34.5	35.3	34.4	39.1	37.1	37.5	37.8	37.5	36.7	36.9
1708.6	1728.8	1747.9	1767.3	1786.0	1804.8	1824.3	1843.0	1862.3	1879.5	1899.9	1919.2	1937.9	1956.9	1976.1	1993.9	2011.9	2030.9	2050.7	2069.7
124.1	125.9	128.2	130.2	131.7	133.1	134.5	135.7	137.5	139.1	141.9	145.1	147.8	151.1	153.6	157.4	162.0	164.5	167.9	170.3
2949	2985	3018	3051	3083	3115	3147	3177	3209	3238	3273	3307	3336	3365	3396	3428	3460	3492	3525	3559
275	280	284	287	291	295	300	302	306	311	316	318	321	320	323	328	334	337	342	349

116	117	118	119	120
364.6	364.3	365.8	366.2	367.2
37.4	39.1	39.0	38.9	37.2
17.5	18.9	17.4	16.3	18.2
4.8	4.9	2.7	2.4	2.2
31	32	34	34	37
7	6	8	8	7
313.1	314.6	314.9	315.9	317.8
38.6	38.4	38.4	36.7	37.0
2087.1	2106.0	2123.4	2139.8	2158.0
174.1	177.6	179.7	181.7	183.3
3591	3623	3657	3691	3728
354	357	364	371	377

ASP hembras n=8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
̄ Masa del espécimen (g)	52.2	57.3	61.3	65.0	69.3	74.6	79.8	84.2	89.4	93.3	96.8	101.6	105.2	108.7	111.5
SD Masa del espécimen (g) ±	8.8	8.4	8.2	11.1	9.5	9.7	10.0	9.8	10.1	9.5	9.7	9.5	9.0	8.5	8.0
̄ Alimento ingerido (g)	8.6	8.8	8.9	9.7	11.4	11.7	11.6	12.7	12.2	12.6	13.7	13.9	14.8	11.6	14.6
SD Alimento ingerido (g) ±	1.7	1.0	3.7	1.2	1.6	0.9	1.2	1.6	0.8	0.8	1.2	1.1	1.5	3.4	1.5
̄ Bebida consumida (mL)	18	19	20	20	21	23	22	25	24	22	27	26	29	24	30
SD Bebida consumida (mL) ±	4	5	7	4	7	7	7	8	5	6	6	5	8	7	10
̄ Incremento acumulado de la masa (g)	5.0	9.1	12.8	17.1	22.4	27.6	31.9	37.2	41.1	44.6	49.4	52.9	56.5	59.3	61.6
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±	0.7	1.1	3.8	2.3	2.4	2.9	2.6	3.4	3.1	3.4	3.9	3.6	4.5	5.3	5.5
̄ Alimento ingerido acumulado (g)	8.6	17.4	26.3	36.0	47.4	59.0	70.6	83.3	95.4	108.0	121.7	135.6	150.5	162.1	176.7
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±	1.7	1.9	3.8	3.4	3.5	4.1	5.0	6.1	6.8	7.5	8.2	8.8	9.8	9.4	10.8
̄ Bebida consumida acumulada (mL)	18	37	56	76	97	120	142	168	191	213	240	266	295	319	349
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±	4	8	14	17	24	30	36	44	48	52	57	61	68	74	83

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
113.9	116.0	119.3	120.6	123.4	124.7	128.0	129.7	132.8	134.7	136.8	138.8	140.8	143.1	145.7	147.6	149.8	150.8	153.4	155.2
8.5	8.5	8.1	8.4	8.4	7.2	7.1	9.6	6.8	7.0	7.2	8.4	7.2	6.4	6.8	6.7	6.9	7.2	7.5	7.5
14.4	14.1	13.2	13.6	14.1	13.9	14.0	14.5	13.9	13.3	15.8	14.1	14.0	15.1	14.9	14.5	12.7	13.4	15.2	15.2
1.5	1.3	2.0	1.5	1.5	1.3	2.1	1.8	0.9	3.1	1.7	2.4	2.1	1.5	1.5	1.8	2.0	1.8	1.2	1.8
29	29	26	30	31	28	30	33	28	31	31	31	32	30	33	28	31	30	33	29
11	10	13	14	12	7	14	13	9	10	13	14	12	12	11	10	14	11	13	7
63.8	67.0	68.4	71.2	72.5	75.8	77.5	80.6	82.5	84.6	86.6	88.6	90.9	93.5	95.4	97.6	98.5	101.1	103.0	104.9
5.2	5.5	8.6	6.2	6.3	6.8	7.3	6.5	7.6	7.7	10.5	10.2	9.4	9.6	11.1	10.4	11.4	10.7	10.9	11.0
191.2	205.3	218.4	232.0	246.1	260.1	274.0	288.5	302.4	315.7	331.4	345.5	359.5	374.7	389.6	404.1	416.7	430.1	445.3	460.5
12.1	13.1	13.9	14.5	15.6	16.0	17.5	18.4	18.8	20.8	22.0	22.9	23.7	24.4	25.2	25.5	26.4	27.4	28.2	29.1
378	406	433	462	493	521	550	584	612	643	674	705	737	767	800	828	858	888	921	950
93	102	108	121	132	138	150	162	170	179	191	204	216	227	237	246	258	269	281	286

36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
157.2	159.2	160.6	162.6	163.4	163.2	165.3	167.6	168.7	170.1	172.3	173.9	175.1	177.3	178.1	180.1	180.8	182.1	183.1	185.5
6.5	7.6	7.8	8.3	8.7	6.8	7.1	8.0	9.2	8.8	8.2	8.4	9.4	9.4	9.6	8.6	9.6	10.0	9.2	9.3
14.7	17.0	13.7	14.4	13.6	14.4	14.9	14.2	14.0	14.2	14.8	14.9	13.8	14.0	15.5	14.8	13.3	13.4	14.5	14.8
1.2	7.5	2.1	2.3	2.2	0.9	2.1	2.9	1.7	1.1	1.4	2.3	1.5	0.8	1.5	2.7	2.3	2.4	1.8	2.9
33	35	31	32	33	36	36	35	36	34	37	39	38	35	41	37	35	37	37	35
11	12	11	11	19	16	15	14	15	12	19	16	15	14	21	14	12	17	21	13
107.0	108.4	110.4	111.2	111.0	113.1	115.4	116.5	117.9	120.0	121.6	122.9	125.1	125.9	127.8	128.6	129.9	130.9	133.2	133.7
11.8	12.1	12.0	12.8	12.0	11.3	12.3	12.9	11.9	11.6	12.3	13.5	12.9	13.0	12.5	13.3	12.5	12.2	12.6	12.9
475.2	492.2	505.8	520.2	533.9	548.3	563.2	577.4	591.4	605.6	620.4	635.2	649.0	663.0	678.5	693.3	706.6	720.0	734.5	749.3
29.9	31.2	32.6	33.7	35.0	34.6	36.2	38.4	39.3	39.7	40.4	42.1	43.3	43.8	45.2	47.3	49.1	51.0	52.3	54.4
982	1018	1048	1080	1113	1150	1186	1220	1257	1291	1328	1367	1405	1440	1480	1517	1552	1590	1627	1661
295	306	314	324	334	343	357	370	383	394	412	428	441	454	474	487	498	514	534	546

76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
197.4	197.8	196.9	199.4	199.2	200.6	200.8	201.6	201.7	199.3	203.1	203.6	204.0	206.5	205.7	207.4	209.2	210.1	209.3	208.8
15.0	15.0	15.3	15.0	15.3	14.1	13.9	15.6	15.2	13.5	14.7	14.4	15.2	14.6	15.7	15.9	14.8	15.4	15.5	15.7
16.1	12.9	15.8	13.8	14.3	16.1	13.5	14.8	13.2	15.1	15.7	14.2	15.9	13.8	14.6	14.9	14.5	14.5	13.7	14.9
1.8	1.4	2.7	2.7	1.4	2.2	1.9	3.0	1.3	2.5	5.3	2.7	1.8	1.8	4.6	2.3	3.3	2.3	2.6	2.3
63	64	75	69	61	66	67	60	49	62	72	60	62	61	80	61	72	65	60	56
24	25	41	33	26	30	37	21	25	26	42	27	33	26	40	25	25	25	29	17
146.9	146.0	148.5	148.4	149.7	149.9	150.7	150.8	148.4	152.2	152.7	153.1	155.6	154.8	156.5	158.3	159.2	158.4	157.9	158.9
18.5	18.9	18.5	18.6	17.5	17.5	18.5	18.7	16.1	18.8	17.7	18.5	18.1	19.2	19.4	17.9	18.5	19.1	19.4	19.9
1042.4	1055.3	1071.1	1084.9	1099.2	1115.4	1128.8	1143.6	1156.8	1171.8	1187.5	1201.6	1217.5	1231.3	1245.9	1260.8	1275.4	1289.9	1303.6	1318.5
90.6	91.8	93.9	95.0	95.8	97.2	98.6	101.1	101.5	102.1	106.9	108.9	110.3	111.7	113.2	114.3	117.2	118.4	120.8	122.8
4050	4114	4188	4258	4319	4384	4451	4511	4560	4622	4694	4754	4816	4876	4956	5017	5089	5155	5215	5271
1440	1464	1504	1536	1560	1585	1621	1641	1661	1685	1726	1752	1783	1808	1845	1869	1893	1917	1945	1960

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
209.8	210.9	211.0	211.7	211.5	212.7	211.9	212.1	212.6	212.4	213.5	214.3	215.2	214.9	215.3	214.5	214.9	215.9	216.5	216.8
16.2	16.6	16.4	16.9	16.8	15.7	16.4	17.2	16.2	16.3	17.4	16.5	16.3	16.9	17.2	16.2	15.1	15.8	16.2	17.9
15.2	13.4	13.8	14.8	14.2	13.6	13.0	13.8	14.6	12.4	15.6	13.9	13.2	14.9	13.4	14.0	13.8	12.9	13.7	13.0
1.6	3.4	2.2	3.3	1.6	2.1	2.1	2.0	2.6	3.8	2.3	2.2	1.3	2.4	2.0	2.3	1.9	5.1	3.2	2.1
58	66	61	63	61	58	60	60	61	60	64	62	58	61	56	62	57	60	67	59
22	30	26	21	21	25	29	27	22	20	20	21	21	29	21	31	24	24	27	26
160.1	160.1	160.8	160.6	161.9	161.0	161.2	161.7	161.5	162.7	163.4	164.4	164.1	164.4	163.7	164.1	165.0	165.6	166.0	164.7
20.3	20.2	20.7	20.6	19.2	20.3	20.7	19.9	20.3	21.3	20.3	20.3	20.4	21.2	19.8	19.2	19.4	20.1	21.3	21.0
1333.7	1347.1	1360.8	1375.6	1389.8	1403.4	1416.4	1430.1	1444.8	1457.1	1472.8	1486.7	1499.9	1514.8	1528.2	1542.1	1556.0	1568.9	1582.6	1595.5
124.1	125.9	127.7	129.6	130.4	132.1	133.2	133.9	135.5	136.6	137.4	139.3	140.4	142.0	143.6	145.4	145.8	149.1	151.3	153.0
5329	5394	5456	5519	5580	5638	5697	5757	5818	5878	5942	6003	6061	6122	6178	6240	6297	6357	6424	6484
1981	2010	2034	2055	2074	2098	2127	2153	2172	2191	2210	2231	2251	2279	2300	2329	2352	2375	2402	2427

116	117	118	119	120
215.6	215.7	216.7	216.2	216.9
17.6	16.3	16.6	16.0	16.8
14.0	15.8	13.8	12.5	14.5
1.9	2.6	1.7	2.7	2.8
64	62	62	58	64
34	20	20	24	25
164.8	165.9	165.3	166.0	166.0
19.5	19.9	19.4	20.1	20.5
1609.5	1625.3	1639.0	1651.5	1666.0
154.2	156.0	157.3	158.5	161.0
6548	6609	6672	6729	6794
2460	2479	2498	2521	2546

SACARINA machos n=8															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
̄ Masa del espécimen (g)	50.9	56.2	60.7	64.7	70.8	76.5	82.5	87.2	92.8	99.1	104.1	110.1	115.2	119.9	126.3
SD Masa del espécimen (g) ±	4.9	4.9	5.5	7.0	6.7	7.3	7.7	7.7	7.4	7.8	9.7	10.2	11.2	12.9	12.3
̄ Alimento ingerido (g)	9.0	7.7	9.6	10.4	10.9	11.9	12.2	12.6	13.3	14.1	14.4	13.9	16.3	16.2	16.5
SD Alimento ingerido (g) ±	2.0	2.6	2.1	1.5	1.4	1.4	1.5	2.0	2.1	2.2	1.7	2.9	1.9	2.2	1.8
̄ Bebida consumida (mL)	31	31	24	29	28	29	22	28	27	28	31	27	31	29	31
SD Bebida consumida (mL) ±	20	20	12	10	9	7	8	5	6	9	8	9	10	7	11
̄ Incremento acumulado de la masa (g)	5.3	9.8	13.9	19.9	25.6	31.6	36.3	41.9	48.2	53.2	59.3	64.3	69.0	75.5	80.4
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±	1.5	1.5	2.5	2.4	2.9	3.9	3.7	3.9	5.1	6.9	7.5	8.6	10.6	10.0	10.2
̄ Alimento ingerido acumulado (g)	9.0	16.7	26.2	36.6	47.5	59.4	71.7	84.3	97.6	111.6	126.0	139.8	156.1	172.3	188.7
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±	2.0	3.7	4.2	5.4	5.5	6.5	6.9	8.4	9.6	11.3	12.0	14.0	15.6	17.2	18.4
̄ Bebida consumida acumulada (mL)	31	63	86	115	143	171	194	221	248	276	307	335	366	395	426
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±	20	39	37	47	52	54	55	56	60	66	71	79	87	93	102

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
131.3	135.4	140.4	146.3	150.9	156.1	161.4	167.6	172.3	177.7	183.5	189.8	195.1	201.5	206.9	211.9	217.6	222.6	227.4	232.0
12.4	13.9	13.2	14.9	15.3	16.7	17.4	18.9	18.7	19.0	20.6	21.7	21.7	23.6	24.1	24.9	24.7	25.2	25.0	28.2
16.3	16.4	16.5	16.8	18.4	17.5	18.4	18.0	18.9	19.4	20.0	18.7	20.2	20.5	19.8	17.8	21.1	20.4	22.2	20.9
1.9	3.0	3.3	2.1	1.9	2.8	2.7	1.5	3.3	2.3	3.9	3.9	1.9	2.7	4.7	10.0	2.2	2.4	3.1	2.3
27	34	41	33	38	34	37	38	38	37	39	41	42	40	38	42	41	41	42	43
15	15	21	9	10	12	12	9	12	9	12	14	14	11	10	10	11	12	19	12
84.5	89.5	95.4	100.0	105.2	110.5	116.7	121.4	126.8	132.6	138.9	144.2	150.6	156.0	161.0	166.7	171.7	176.5	181.1	186.2
12.1	11.4	13.0	13.7	14.9	15.6	17.1	17.0	17.3	18.7	19.9	20.3	22.0	22.6	23.6	23.4	23.8	23.9	27.0	26.5
205.0	221.4	237.9	254.7	273.0	290.5	308.9	326.9	345.8	365.2	385.1	403.9	424.1	444.5	464.3	482.1	503.2	523.6	545.7	566.6
20.0	21.8	24.3	25.6	26.8	28.9	30.9	32.2	34.3	36.3	38.9	42.1	43.9	46.4	50.3	53.7	55.8	57.8	60.5	62.4
458	492	533	566	604	638	675	713	751	788	826	867	909	949	987	1029	1069	1110	1152	1195
107	121	126	134	144	155	166	173	182	190	200	213	226	236	246	255	266	277	293	304

56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
308.3	310.6	314.7	317.6	319.0	321.7	325.1	327.4	330.7	333.5	336.9	337.7	341.0	342.5	345.5	347.3	350.7	351.5	352.7	356.0
26.5	27.4	28.5	29.3	30.4	29.0	30.0	30.5	31.8	31.5	32.0	32.1	32.5	33.8	32.4	31.3	31.4	32.1	33.1	33.4
22.0	23.5	23.2	23.2	21.7	22.8	22.0	23.3	23.0	22.0	22.3	22.5	21.6	22.5	21.1	21.9	22.2	22.5	22.3	21.4
2.8	3.0	1.9	2.0	2.4	2.7	2.0	2.9	2.5	2.7	3.0	2.3	2.5	3.2	4.2	3.4	2.3	3.4	2.9	2.0
50	48	52	48	46	51	49	47	48	49	47	46	46	47	46	47	49	43	46	47
11	7	12	8	7	10	8	11	9	9	11	7	10	10	8	12	14	12	8	14
262.6	266.7	269.6	271.0	273.8	277.2	279.4	282.7	285.5	288.9	289.7	293.0	294.5	297.5	299.3	302.7	303.5	304.7	308.0	310.3
28.1	29.4	30.3	31.6	29.9	30.9	31.6	32.6	32.5	32.7	33.1	33.4	34.8	33.3	32.1	32.4	32.9	33.9	34.3	34.6
1028.1	1051.6	1074.8	1098.0	1119.7	1142.5	1164.5	1187.8	1210.8	1232.8	1255.1	1277.6	1299.2	1321.7	1342.8	1364.7	1386.9	1409.5	1431.8	1453.1
59.2	61.6	62.9	64.2	65.8	68.2	70.1	71.7	73.6	75.7	77.5	79.0	80.7	81.8	83.8	87.0	87.7	89.7	92.5	94.1
2250	2298	2350	2398	2444	2495	2544	2591	2639	2688	2735	2781	2827	2874	2920	2966	3015	3059	3105	3151
398	401	411	418	423	433	438	447	455	464	473	480	489	498	504	514	527	536	543	556

76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
358.2	360.6	361.9	363.7	366.1	366.2	369.2	369.5	372.5	373.2	375.4	377.2	378.8	380.9	381.6	384.1	384.8	387.2	387.9	389.1
33.7	33.3	34.2	34.1	34.0	35.5	34.9	34.1	35.9	35.4	35.6	36.5	36.4	36.0	35.9	37.2	36.4	37.3	37.0	37.5
23.1	21.6	21.8	21.4	21.7	21.9	20.7	23.2	22.5	23.4	21.4	22.9	22.7	20.8	21.9	22.0	22.2	21.5	21.7	21.4
2.1	2.9	3.2	2.5	3.5	3.1	2.7	3.1	4.1	4.0	2.9	2.2	1.9	2.3	2.3	2.1	3.2	3.1	2.5	2.3
46	46	47	52	48	44	41	48	42	47	41	43	40	40	41	43	45	46	39	47
7	9	11	15	12	9	11	11	7	18	10	12	8	10	10	13	11	13	12	13
312.6	313.9	315.7	318.1	318.2	321.2	321.5	324.5	325.3	327.4	329.2	330.8	333.0	333.6	336.1	336.8	339.2	339.9	341.1	343.1
34.3	35.1	35.0	34.7	36.3	35.8	35.0	36.7	36.6	36.7	37.5	37.3	37.0	36.7	38.1	37.5	38.4	38.1	38.3	37.7
1476.3	1497.8	1519.7	1541.0	1562.7	1584.7	1605.4	1628.6	1651.1	1674.5	1695.9	1718.8	1741.4	1762.2	1784.1	1806.1	1828.3	1849.8	1871.5	1892.9
96.0	97.6	100.3	102.2	104.7	106.7	107.1	109.6	110.8	114.5	117.2	118.0	118.8	120.8	122.2	122.7	125.1	127.2	129.4	131.3
3197	3243	3290	3342	3391	3435	3476	3524	3566	3613	3653	3697	3737	3777	3818	3861	3906	3952	3991	4038
561	570	580	594	604	608	617	623	629	638	647	657	663	672	681	693	702	713	714	726

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
391.1	392.4	393.1	395.0	397.0	397.7	398.8	400.0	400.5	401.0	403.9	404.6	404.5	406.5	406.7	406.9	410.1	410.5	411.0	411.9
36.9	38.0	38.5	37.8	38.4	38.5	39.0	39.6	39.1	39.1	39.8	40.4	40.4	40.1	39.2	39.6	40.6	41.8	40.5	40.5
20.7	21.2	21.1	22.5	20.9	21.1	20.5	22.1	21.5	21.6	21.2	21.2	21.7	21.2	20.9	20.7	20.6	20.3	18.5	20.6
2.5	2.9	4.9	1.9	3.1	3.9	2.3	2.6	1.9	2.1	3.1	3.4	2.8	2.4	2.6	3.2	2.4	2.7	6.4	2.8
44	43	39	50	43	38	45	45	38	40	44	45	43	42	39	40	39	43	41	43
10	12	8	19	11	8	14	9	10	11	13	11	10	6	6	6	5	7	9	6
344.4	345.1	347.0	349.0	349.8	350.8	352.0	352.5	353.0	355.9	356.6	356.5	358.5	358.7	358.9	362.1	362.5	363.0	363.9	364.2
38.8	39.4	38.4	39.4	39.2	39.7	40.3	39.8	39.7	40.4	41.0	41.2	40.4	39.8	40.1	41.1	42.3	41.2	41.1	41.9
1913.7	1934.9	1956.0	1978.5	1999.4	2020.5	2041.0	2063.1	2084.6	2106.1	2127.3	2148.5	2170.3	2191.5	2212.4	2233.0	2253.7	2274.0	2292.5	2313.1
132.7	134.0	136.1	137.4	139.3	141.9	143.5	145.3	145.8	146.1	149.0	151.7	153.3	154.7	156.8	159.3	161.1	163.4	164.8	166.8
4082	4124	4163	4213	4256	4294	4339	4384	4422	4461	4505	4550	4594	4636	4675	4715	4754	4797	4838	4881
735	744	751	757	765	770	784	792	799	808	820	828	835	840	843	848	853	858	865	870

116	117	118	119	120
412.2	414.3	414.1	414.9	416.9
41.4	41.2	42.1	41.0	42.2
20.8	20.8	21.1	21.1	22.0
3.0	3.1	2.3	4.0	3.0
39	44	42	44	48
9	8	7	15	12
366.3	366.1	366.9	368.9	369.1
41.6	42.5	41.4	42.7	42.9
2333.9	2354.7	2375.8	2396.9	2418.9
169.3	171.7	173.5	176.2	178.7
4920	4964	5006	5049	5098
871	877	882	893	897

STEVIA hembras n=8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
̄ Masa del espécimen (g)	51.5	56.0	59.6	64.6	69.0	74.1	78.0	82.9	87.2	90.7	94.7	98.6	102.1	105.7	108.5
SD Masa del espécimen (g) ±	6.7	6.4	6.9	6.8	6.5	6.7	7.5	7.2	6.6	6.9	6.2	6.0	6.5	6.3	5.6
̄ Alimento ingerido (g)	9.5	9.0	9.3	10.0	11.6	10.9	12.0	12.4	12.2	12.5	13.4	14.2	14.6	12.1	14.7
SD Alimento ingerido (g) ±	2.5	2.3	1.6	0.6	2.0	1.5	1.3	1.1	1.4	1.1	0.9	0.8	1.6	2.4	0.7
̄ Bebida consumida (mL)	28	33	23	24	30	28	28	30	28	32	34	34	35	32	37
SD Bebida consumida (mL) ±	8	24	5	4	10	13	8	10	6	7	8	7	9	8	8
̄ Incremento acumulado de la masa (g)	4.6	11.9	13.2	17.6	22.7	26.5	31.4	35.8	39.3	43.2	47.2	50.6	54.2	57.0	59.2
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±	0.8	10.8	1.3	1.7	2.0	3.3	2.7	2.7	3.0	3.4	3.7	4.8	4.8	4.5	4.3
̄ Alimento ingerido acumulado (g)	9.5	18.5	27.8	37.8	49.4	60.2	72.2	84.6	96.8	109.3	122.7	136.8	151.4	163.5	178.1
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±	2.5	3.4	3.3	3.0	4.2	5.0	5.5	6.5	7.5	7.7	8.1	8.2	9.6	10.4	10.8
̄ Bebida consumida acumulada (mL)	28	61	84	108	137	165	193	222	250	282	316	350	385	417	454
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±	8	27	31	34	44	40	46	53	58	64	71	77	85	93	101

116	117	118	119	120
218.2	218.9	218.0	219.7	219.5
12.7	13.0	14.1	13.1	11.6
14.5	14.3	15.0	14.1	13.6
1.3	2.0	1.8	4.1	4.0
45	48	41	40	50
20	20	16	15	16
167.4	166.5	168.2	168.0	168.2
14.8	16.3	15.7	13.5	14.6
1690.6	1704.9	1719.9	1734.1	1747.7
109.1	109.9	111.4	114.7	112.7
5058	5106	5147	5187	5237
1374	1392	1404	1417	1427

SUCRALOSA machos n=8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
̄ Masa del espécimen (g)	50.1	55.3	59.4	63.9	68.1	73.8	79.3	84.4	89.8	95.6	100.4	106.6	110.7	116.2	120.8
SD Masa del espécimen (g) ±	6.4	7.6	8.4	9.0	8.8	9.0	9.1	9.8	9.5	9.9	9.7	9.9	9.4	9.6	10.1
̄ Alimento ingerido (g)	7.9	8.8	8.7	10.9	11.0	11.8	11.7	13.4	12.2	14.8	14.5	13.1	16.3	16.7	16.0
SD Alimento ingerido (g) ±	2.0	1.5	2.0	3.5	1.4	1.5	1.4	1.4	2.9	3.9	5.1	2.2	1.6	5.4	4.2
̄ Bebida consumida (mL)	19	17	19	18	21	25	21	24	23	23	26	23	27	26	26
SD Bebida consumida (mL) ±	8	5	4	6	6	7	5	5	6	7	6	5	6	6	5
̄ Incremento acumulado de la masa (g)	5.2	9.3	13.8	18.0	23.7	29.2	34.3	39.7	45.5	50.3	56.5	60.6	66.1	70.7	76.6
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±	1.4	2.0	2.7	3.6	3.0	2.8	3.7	3.6	4.5	4.4	5.1	4.7	5.3	6.2	5.6
̄ Alimento ingerido acumulado (g)	7.9	16.6	25.4	36.2	47.2	59.0	70.7	84.2	96.4	111.2	125.7	138.8	155.1	171.8	187.8
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±	2.0	2.5	4.1	6.0	6.9	7.8	8.9	8.3	10.3	7.7	11.9	13.2	13.5	9.7	12.9
̄ Bebida consumida acumulada (mL)	19	36	54	73	94	118	140	164	187	210	235	258	285	311	337
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±	8	12	16	18	21	25	28	32	37	41	46	45	50	54	57

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
126.7	131.3	135.6	140.2	145.5	150.5	156.3	161.6	163.2	170.7	177.0	181.7	187.7	194.0	199.5	204.7	209.3	214.4	220.0	225.9
9.8	10.0	9.7	9.1	10.1	9.5	9.6	9.8	11.3	10.9	11.2	10.2	11.5	12.2	12.5	12.2	12.6	16.0	13.0	13.0
16.2	15.6	16.9	16.6	17.9	17.4	17.6	17.0	19.3	17.3	18.6	18.9	19.0	20.0	18.5	18.9	20.6	19.0	22.3	19.7
1.4	1.4	2.0	1.9	1.2	0.9	2.2	4.0	2.6	3.1	3.1	2.3	2.0	2.2	3.3	3.8	2.8	3.0	1.4	1.3
27	30	29	28	30	27	28	34	32	31	31	30	31	31	30	31	30	37	33	34
5	8	4	4	6	5	5	25	10	10	8	8	6	4	5	6	14	17	6	4
81.2	85.5	90.1	95.4	100.4	106.2	111.5	113.1	120.6	126.9	131.6	137.6	143.9	149.4	154.6	159.2	164.3	169.9	175.8	179.9
7.2	7.0	6.9	7.6	7.5	7.6	8.3	11.7	9.8	9.6	9.5	10.7	11.5	12.0	12.2	12.4	16.8	13.3	13.4	13.8
204.0	219.5	236.4	253.0	270.9	288.4	305.9	322.9	342.2	359.6	378.1	397.0	416.1	436.1	454.5	473.5	494.1	513.0	535.3	555.0
13.4	14.4	15.1	15.5	16.0	16.2	16.7	19.0	20.0	18.2	18.6	19.1	19.9	20.1	21.6	23.4	24.2	24.6	25.7	26.4
364	394	423	450	480	507	535	569	601	631	663	693	724	755	785	816	846	883	916	950
59	63	65	68	72	76	78	77	84	91	98	105	110	112	116	120	128	132	138	141

36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
230.0	233.5	238.3	238.5	246.0	248.9	254.4	257.2	261.7	264.6	268.4	271.9	274.9	278.2	281.9	284.3	288.7	291.0	293.2	296.2
13.1	13.5	13.1	17.9	13.7	13.5	14.9	13.5	13.5	13.8	12.3	13.3	13.0	14.6	13.8	13.9	13.8	13.8	14.5	15.0
20.4	20.6	18.1	20.8	20.7	21.5	20.3	21.4	21.0	21.5	20.8	20.7	22.7	21.1	20.5	21.5	21.4	18.0	23.5	21.9
2.1	1.9	2.8	3.9	3.7	4.7	2.6	2.4	1.8	1.6	1.9	1.9	4.4	1.9	1.8	2.6	2.4	7.4	3.0	2.7
36	37	35	44	36	42	39	41	38	40	44	41	44	45	40	42	42	43	41	38
5	6	13	12	9	9	6	7	8	7	9	10	10	11	10	12	10	12	7	9
183.4	188.2	188.4	195.9	198.8	204.3	207.1	211.6	214.5	218.3	221.8	224.8	228.1	231.8	234.2	238.6	240.9	243.1	246.1	249.5
14.3	13.8	18.7	14.3	14.5	15.4	14.3	14.4	14.7	13.3	14.1	14.0	15.1	15.4	15.5	16.0	15.4	15.9	16.6	17.5
575.4	595.9	614.0	634.8	655.5	677.0	697.3	718.7	739.7	761.2	781.9	802.6	825.3	846.3	866.8	888.3	909.7	927.6	951.1	973.1
27.4	27.3	29.1	31.7	32.8	35.6	37.1	38.8	39.7	40.5	41.1	42.2	45.9	46.6	47.5	47.4	47.9	49.6	49.6	51.3
987	1024	1058	1102	1138	1180	1219	1259	1297	1338	1382	1423	1467	1511	1552	1593	1635	1678	1719	1757
143	148	157	161	168	175	180	185	191	196	203	213	221	229	238	247	256	267	274	279

56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
299.6	300.0	304.6	306.9	310.4	314.1	316.0	315.0	319.3	321.9	324.8	325.6	328.4	331.5	331.4	335.8	338.0	339.2	341.9	342.7
15.7	17.3	16.4	17.4	16.9	17.9	16.9	17.7	16.9	18.7	17.2	18.3	18.1	18.7	19.1	18.9	20.1	20.7	20.2	21.1
20.6	21.7	21.1	22.0	21.3	20.3	21.6	17.6	20.5	20.9	20.3	20.9	20.9	19.6	20.8	19.8	20.2	21.1	21.2	20.1
3.6	2.2	2.5	1.6	2.4	2.4	2.7	7.4	2.7	2.1	2.0	2.9	2.6	1.9	2.0	3.8	2.2	2.1	3.3	1.7
37	48	42	45	41	42	38	45	42	47	40	44	43	44	43	41	43	40	41	41
14	12	11	10	9	9	18	10	11	14	9	11	11	9	12	10	11	11	8	9
249.9	254.5	256.8	260.3	264.0	265.9	264.9	269.2	271.8	274.7	275.5	278.3	281.4	281.3	285.7	287.9	289.1	291.8	292.6	293.2
18.6	18.7	19.7	18.9	20.1	18.9	17.7	18.8	21.1	19.5	21.0	21.0	21.3	21.7	21.3	22.5	23.1	22.6	23.4	24.5
993.7	1015.4	1036.4	1058.4	1079.7	1100.0	1121.7	1139.3	1159.8	1180.6	1200.9	1221.8	1242.7	1262.3	1283.1	1302.9	1323.0	1344.1	1365.3	1385.4
53.1	53.4	54.9	56.1	57.8	57.6	59.3	63.1	64.6	65.9	66.4	68.2	70.4	71.6	73.4	76.2	77.4	78.5	81.3	82.1
1794	1842	1884	1929	1970	2013	2051	2096	2138	2185	2225	2269	2312	2356	2399	2441	2483	2523	2565	2606
282	291	301	311	319	327	341	349	359	369	376	387	396	402	412	421	430	439	447	455

76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
343.4	347.3	348.3	349.4	351.8	353.8	356.2	357.5	360.8	362.2	364.9	365.6	368.5	368.1	370.7	371.5	372.7	375.3	377.3	378.6
22.0	21.3	22.8	23.0	22.3	21.6	23.8	23.5	23.7	25.4	26.4	24.7	25.9	25.0	25.8	26.7	25.5	27.7	26.2	25.3
21.2	20.9	20.4	20.1	21.7	22.5	20.2	21.3	20.5	22.3	19.9	22.7	22.4	21.2	21.3	20.6	21.1	20.6	20.6	19.6
2.0	3.0	3.1	2.0	4.8	3.9	2.2	2.0	3.1	3.5	2.1	4.7	4.4	1.7	2.2	2.0	2.8	2.0	2.3	4.6
43	44	40	38	39	41	37	43	37	38	39	38	39	39	42	35	40	40	40	42
8	8	11	9	10	11	12	13	8	10	9	6	9	12	11	7	9	6	12	15
297.1	298.1	299.2	301.6	303.6	306.0	307.3	310.6	312.0	314.7	315.4	318.3	317.9	320.5	321.1	322.3	324.9	326.9	328.2	330.0
23.6	25.2	25.6	25.0	24.3	26.2	25.7	26.0	27.7	28.4	27.0	27.9	27.2	28.0	29.1	27.7	30.1	28.7	27.8	27.0
1406.6	1427.4	1447.8	1467.9	1489.7	1512.1	1532.4	1553.6	1574.1	1596.4	1616.3	1639.0	1661.3	1682.5	1703.9	1724.4	1745.5	1766.1	1786.7	1806.3
82.6	85.3	87.4	88.3	88.8	91.2	92.9	92.8	95.6	98.8	100.3	104.6	107.5	108.8	110.6	112.4	113.9	115.5	116.7	118.8
2648	2692	2732	2769	2808	2850	2886	2929	2967	3004	3043	3081	3120	3160	3201	3237	3276	3317	3357	3398
462	468	477	485	494	503	514	525	533	542	550	555	562	573	583	589	596	602	612	623

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
380.4	381.1	381.7	384.7	385.9	385.6	387.0	389.0	389.8	392.2	393.2	393.3	395.3	394.4	394.4	398.8	398.6	400.9	402.0	401.7
24.5	25.7	28.4	25.9	28.2	27.3	28.2	27.0	28.1	28.5	28.6	29.4	28.3	28.6	31.9	29.6	29.2	29.1	30.3	30.0
20.6	20.5	20.5	21.6	18.9	21.1	20.4	20.7	21.2	19.9	20.8	20.4	19.2	19.3	20.8	19.5	19.7	20.5	19.6	20.6
1.8	8.8	2.3	4.0	2.7	2.8	2.4	2.6	3.0	2.3	3.8	2.0	3.0	3.9	3.4	3.6	2.4	2.7	2.5	2.9
41	40	38	41	41	40	39	40	37	39	37	38	36	41	38	38	37	39	40	37
18	9	10	10	11	11	11	10	8	8	9	9	8	9	10	8	8	8	9	10
330.7	331.3	334.3	335.5	335.2	336.6	338.6	339.4	341.8	342.9	342.9	344.9	344.1	344.1	348.5	348.3	350.6	351.7	351.3	352.4
28.0	30.7	28.4	30.6	29.6	30.4	29.1	30.2	30.7	30.9	31.6	30.3	30.6	34.4	31.7	31.3	31.0	32.1	31.9	32.7
1826.9	1847.4	1868.0	1889.6	1908.5	1929.5	1949.9	1970.6	1991.8	2011.7	2032.5	2052.8	2072.0	2091.4	2112.1	2131.6	2151.3	2171.8	2191.4	2212.0
120.0	124.3	125.2	128.6	130.5	132.4	134.4	136.7	138.5	140.4	142.9	144.3	146.2	147.9	150.0	152.7	153.9	155.9	158.0	159.2
3439	3479	3517	3558	3598	3638	3677	3717	3754	3793	3830	3869	3904	3945	3984	4022	4058	4097	4137	4175
638	645	654	663	672	682	691	699	707	712	721	728	736	743	751	757	764	772	780	788

116	117	118	119	120
402.8	405.4	405.0	405.5	407.0
30.6	29.8	30.2	29.3	31.1
20.4	20.7	20.0	19.1	19.5
2.3	4.0	2.5	2.6	3.2
38	40	38	41	38
7	8	10	8	8
355.1	354.7	355.1	356.7	357.6
31.7	32.1	31.1	33.1	33.5
2232.4	2253.1	2273.1	2292.2	2311.6
160.5	163.1	165.1	166.4	167.5
4213	4253	4291	4332	4370
794	801	809	816	822

SUCRALOSA hembras n=8		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
X Masa del espécimen (g)		53.5	56.8	61.5	65.6	70.0	74.9	79.6	83.9	87.9	91.9	95.5	98.4	101.9	104.7	107.1
SD Masa del espécimen (g) ±		5.9	6.7	7.2	7.6	7.0	6.6	6.7	6.3	6.7	6.1	6.0	6.1	5.6	5.6	5.5
X Alimento ingerido (g)		8.2	9.2	9.7	9.5	11.2	11.3	12.3	12.5	11.9	13.2	12.6	11.8	13.9	12.9	15.4
SD Alimento ingerido (g) ±		1.6	2.0	1.0	1.2	0.9	1.1	1.3	2.1	1.0	1.1	1.5	3.7	1.5	1.3	4.0
X Bebida consumida (mL)		18	22	22	26	25	30	26	33	26	25	27	27	29	24	30
SD Bebida consumida (mL) ±		7	9	6	11	5	7	7	11	6	7	6	6	9	7	7
X Incremento acumulado de la masa (g)		3.3	8.0	12.1	16.5	21.4	26.1	30.4	34.4	38.4	42.0	44.9	48.4	51.2	53.6	56.5
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±		1.7	2.0	2.0	2.1	1.9	2.0	1.6	1.8	2.3	2.6	3.4	3.3	3.8	4.5	4.6
X Alimento ingerido acumulado (g)		8.2	17.4	27.1	36.6	47.8	59.0	71.3	83.8	95.7	109.0	121.6	133.4	147.2	160.1	175.5
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±		1.6	3.4	4.4	4.0	4.5	5.3	6.4	8.1	8.0	8.7	9.4	10.2	11.6	12.1	13.3
X Bebida consumida acumulada (mL)		18	40	61	88	112	143	169	202	228	253	280	308	337	361	391
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±		7	15	22	26	30	37	43	52	56	54	58	63	67	71	76

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
110.0	110.0	113.4	116.2	118.5	121.1	124.1	126.1	128.5	131.6	132.8	133.9	136.7	139.6	141.0	143.6	146.2	147.8	150.1	151.7
5.2	5.8	6.0	6.3	5.8	7.2	6.5	6.4	6.5	7.6	8.0	9.2	8.7	8.6	9.7	10.2	11.2	10.9	11.6	11.9
12.7	13.7	13.7	13.3	15.2	12.9	14.2	13.3	14.2	14.3	15.9	13.7	13.3	14.9	16.4	14.9	13.8	14.3	15.6	15.5
2.9	2.4	2.7	1.3	1.8	1.3	1.8	1.2	2.7	1.6	3.0	1.9	2.3	1.5	2.6	1.4	1.7	1.2	1.2	1.2
29	34	32	35	36	31	33	35	31	30	29	32	32	35	32	35	33	35	34	35
11	13	11	10	14	8	8	9	8	8	12	7	10	13	8	10	7	12	9	6
56.5	59.9	62.7	65.0	67.6	70.6	72.6	75.0	78.1	79.3	80.4	83.2	86.1	87.5	90.1	92.7	94.3	96.6	98.2	99.6
6.1	6.0	7.2	7.0	8.4	8.1	8.1	8.6	9.2	10.8	12.2	11.4	11.4	12.8	13.0	14.2	13.9	15.0	15.3	16.4
188.2	201.8	215.5	228.8	244.0	256.9	271.0	284.3	298.5	312.8	328.7	342.4	355.6	370.5	387.0	401.9	415.6	429.9	445.6	461.1
14.9	15.6	16.9	17.8	19.1	19.0	18.9	19.0	20.9	21.7	21.9	22.7	23.3	24.2	25.3	26.0	26.9	27.4	28.0	28.6
421	454	486	521	557	588	621	656	687	716	745	777	809	844	876	911	944	979	1012	1048
84	83	87	94	107	113	120	128	133	137	144	148	155	160	167	175	180	190	195	198

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
378.9	379.7	382.4	384.8	385.2	386.8	384.8	387.1	388.6	390.1	392.8	393.3	395.3	396.9	397.5	397.3	398.6	400.0	402.2	402.0
23.9	23.6	24.3	23.8	24.9	24.7	23.8	24.0	24.3	23.6	19.6	20.2	20.8	20.0	19.2	19.2	20.8	20.6	20.6	21.7
19.6	21.8	21.5	22.9	20.6	20.2	20.2	21.9	22.7	21.0	21.9	20.9	21.4	22.0	19.9	20.5	20.3	20.9	20.2	21.8
1.9	1.4	1.3	3.5	0.8	2.4	1.3	2.3	2.5	3.5	1.9	1.7	0.7	1.6	1.6	2.4	1.3	1.9	1.6	1.7
36	37	37	40	38	35	38	36	35	34	38	38	37	36	36	37	35	41	37	36
6	12	10	6	8	12	9	6	7	8	12	9	11	7	7	12	7	9	6	13
332.3	335.0	337.3	338.1	339.8	337.8	340.1	341.2	342.9	343.3	343.9	345.9	347.5	348.0	347.9	349.2	350.6	352.8	352.6	353.2
23.2	23.8	23.1	23.6	23.2	22.7	22.8	24.0	22.9	23.1	23.6	24.2	23.3	22.8	22.3	24.3	24.0	24.0	25.1	24.1
1901.3	1923.0	1944.6	1967.4	1988.0	2008.2	2028.4	2050.2	2072.9	2093.9	2115.9	2136.8	2158.2	2180.2	2200.0	2220.6	2240.9	2261.8	2282.0	2303.9
57.3	57.4	57.9	58.8	58.8	59.2	59.6	59.0	60.4	59.8	60.4	60.7	60.8	62.0	62.9	63.1	63.2	64.1	64.4	64.0
3422	3459	3496	3535	3573	3608	3647	3683	3718	3752	3790	3828	3864	3900	3936	3974	4009	4050	4086	4122
732	739	744	748	754	757	764	767	774	779	784	792	800	805	812	821	826	832	837	844

116	117	118	119	120
402.6	404.8	402.5	404.0	404.8
20.6	21.2	20.9	19.5	21.2
20.7	20.2	20.7	19.9	21.6
1.7	2.5	1.2	2.7	2.3
38	35	37	41	41
10	10	12	16	22
355.3	353.1	354.6	355.4	355.9
24.6	24.1	22.4	24.5	25.3
2324.6	2344.8	2365.4	2385.3	2406.9
64.7	65.2	65.7	65.3	65.7
4160	4195	4232	4272	4314
852	857	868	878	874

CONTROL hembras n=8		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
X Masa del espécimen (g)		48.3	52.5	56.0	59.2	63.6	68.4	72.7	76.3	79.7	83.7	87.3	91.0	94.5	97.7	99.1
SD Masa del espécimen (g) ±		7.7	7.4	7.8	9.6	8.4	8.8	8.6	9.2	8.8	8.4	7.9	7.9	7.8	8.0	6.8
X Alimento ingerido (g)		8.5	8.4	8.2	9.3	10.6	10.9	10.4	11.4	11.7	11.9	11.4	12.4	13.6	11.7	13.7
SD Alimento ingerido (g) ±		0.8	0.5	3.3	1.0	1.4	1.2	1.4	1.4	1.2	1.3	1.9	1.5	1.0	1.8	1.9
X Bebida consumida (mL)		17	19	21	18	18	18	18	20	21	20	22	21	24	19	26
SD Bebida consumida (mL) ±		6	5	10	4	5	4	5	5	6	3	3	3	5	6	5
X Incremento acumulado de la masa (g)		4.2	7.7	10.9	15.3	20.1	24.4	27.9	31.4	35.4	39.0	42.6	46.1	49.4	50.8	55.6
SD Incremento acumulado de la masa (g) ±		0.5	0.9	3.4	2.1	3.2	3.7	4.4	4.5	5.4	6.0	6.6	7.9	8.7	9.2	10.2
X Alimento ingerido acumulado (g)		8.5	16.9	25.1	34.4	44.9	55.8	66.2	77.6	89.3	101.2	112.6	125.1	138.7	150.4	164.1
SD Alimento ingerido acumulado (g) ±		0.8	0.8	3.6	3.6	4.6	5.3	6.2	7.1	8.0	8.9	9.5	10.1	10.5	10.3	11.5
X Bebida consumida acumulada (mL)		17	36	56	74	92	110	128	149	170	190	212	233	257	275	301
SD Bebida consumida acumulada (mL) ±		6	8	17	18	21	22	26	30	34	37	40	41	45	44	48

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
103.9	106.5	108.8	110.9	114.2	116.8	119.9	122.3	124.1	126.5	128.9	130.9	133.6	136.3	139.2	140.5	143.3	144.6	146.4	148.2
8.2	8.2	8.6	8.8	8.9	10.0	10.2	11.3	11.5	12.3	13.3	13.6	14.2	15.4	15.0	16.6	17.4	17.4	18.5	18.8
13.8	13.0	12.6	13.0	13.8	13.4	13.2	12.9	13.7	13.6	14.2	14.1	12.0	14.1	14.7	14.5	13.9	14.4	13.8	14.2
2.0	2.4	1.0	1.2	1.9	2.0	3.0	2.0	1.8	2.4	2.0	2.3	4.4	2.4	2.8	1.9	2.9	2.2	2.4	1.6
23	25	22	24	27	23	25	28	26	24	26	26	28	27	27	23	27	24	28	29
5	4	9	5	5	5	5	9	5	6	6	6	7	6	7	6	7	7	6	8
58.2	60.5	62.6	65.9	68.5	71.5	74.0	75.8	78.2	80.6	82.5	85.3	88.0	90.9	92.2	95.0	96.3	98.1	99.9	101.6
11.0	11.9	12.4	13.0	14.5	14.7	15.7	16.3	17.3	18.2	18.7	19.5	20.7	20.3	21.9	22.8	22.6	23.9	24.3	24.7
177.9	190.9	203.5	216.4	230.2	243.6	256.8	269.7	283.5	297.1	311.3	325.4	337.4	351.5	366.2	380.6	394.5	409.0	422.8	436.9
12.8	13.8	13.7	14.1	15.1	16.0	17.0	17.2	18.4	20.0	20.7	22.5	25.1	26.7	28.9	30.0	31.7	32.6	34.4	35.7
323	348	370	394	421	444	469	497	523	547	573	599	627	654	681	704	731	755	783	812
50	54	52	53	55	58	62	69	73	76	80	83	88	91	96	101	104	106	108	113

36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
149.9	152.8	154.4	154.9	156.8	157.1	159.7	160.6	163.4	164.5	165.4	165.9	167.9	170.1	171.7	172.6	174.0	175.0	176.8	177.4
19.1	19.1	20.7	21.0	21.0	23.5	23.0	23.0	22.2	22.8	23.8	23.3	23.7	23.8	24.7	24.4	24.7	24.4	25.2	24.4
14.9	15.5	13.6	14.7	13.8	15.2	13.4	15.6	14.1	14.3	13.2	14.2	14.6	14.8	14.8	14.2	14.2	14.5	14.4	13.8
2.0	4.2	2.4	2.3	2.3	2.7	1.5	1.5	2.8	3.4	2.4	2.3	2.3	2.6	2.2	2.4	2.7	2.3	3.2	2.4
26	28	26	28	25	30	27	26	30	29	26	27	30	30	32	27	27	26	27	26
7	7	8	7	13	8	9	7	7	10	8	7	12	11	8	7	9	6	8	9
104.4	106.1	106.6	108.4	108.8	111.4	112.3	115.1	116.1	117.1	117.6	119.5	121.8	123.4	124.3	125.7	126.7	128.5	129.1	129.5
24.5	26.2	26.5	26.5	28.7	28.4	28.3	27.8	28.2	28.9	28.7	29.2	29.3	30.0	29.9	30.3	29.8	30.6	29.9	29.8
451.9	467.3	480.9	495.6	509.3	524.5	537.9	553.5	567.6	581.9	595.1	609.3	623.8	638.7	653.5	667.7	681.8	696.3	710.8	724.6
37.2	40.6	42.7	44.4	46.5	49.0	50.1	50.9	53.5	56.4	58.0	60.1	62.1	64.2	65.8	67.8	69.7	71.7	74.2	75.7
838	866	893	921	946	976	1003	1029	1059	1088	1113	1140	1170	1200	1231	1259	1286	1312	1339	1365
117	122	127	133	137	143	151	157	162	170	177	183	193	203	210	216	223	229	235	242

56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
177.9	180.1	181.8	182.1	183.1	184.4	185.5	185.6	187.4	189.0	189.6	189.9	191.4	193.0	192.9	192.6	195.4	195.4	195.7	195.1
24.1	24.9	24.9	24.7	24.4	24.1	24.9	24.0	23.8	24.5	24.9	24.4	24.4	24.3	24.8	24.5	23.9	24.2	25.0	24.3
16.1	15.8	13.8	14.3	14.2	14.6	14.6	14.4	16.6	14.1	14.4	14.7	14.1	14.8	14.0	14.8	15.3	14.9	14.5	13.6
2.1	2.8	2.4	1.6	2.3	2.7	1.6	1.6	3.1	2.1	2.2	1.6	1.7	1.8	2.2	2.1	2.6	3.3	2.1	1.2
29	30	37	29	31	35	32	28	35	35	30	32	35	32	32	30	35	30	28	26
9	10	15	6	6	9	7	8	8	9	7	5	8	6	8	6	11	8	12	7
131.8	133.5	133.7	134.7	136.1	137.2	137.3	139.1	140.6	141.3	141.6	143.1	144.6	144.6	144.3	147.1	147.0	147.3	146.8	148.2
30.4	30.3	30.3	29.7	29.4	30.2	29.4	29.2	30.1	30.3	29.9	30.1	29.7	30.3	29.9	29.5	29.6	30.3	29.7	29.8
740.6	756.4	770.3	784.5	798.7	813.3	828.0	842.3	858.9	873.1	887.4	902.2	916.3	931.1	945.1	959.8	975.1	990.0	1004.5	1018.1
77.2	79.8	82.1	83.6	85.2	87.7	89.1	90.4	92.2	94.0	95.8	96.9	98.4	100.1	101.8	102.3	103.8	106.3	107.2	108.0
1394	1424	1461	1490	1521	1556	1588	1616	1651	1686	1716	1748	1782	1814	1847	1876	1912	1942	1970	1997
249	254	265	271	276	282	289	296	303	312	318	321	323	325	330	335	341	346	358	363

76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
196.5	198.5	198.4	198.7	198.9	200.2	199.6	200.4	200.8	201.7	202.8	202.3	203.2	203.9	204.3	204.7	206.1	207.0	207.4	206.6
24.3	25.0	24.4	24.6	23.1	24.2	24.5	23.9	23.9	24.8	25.0	24.5	24.1	24.0	25.5	25.0	24.1	24.6	25.9	25.1
15.1	14.8	14.3	12.9	13.9	15.4	13.5	15.1	15.0	14.5	13.1	14.3	13.2	14.0	14.1	13.6	15.3	14.0	13.8	13.5
2.1	2.8	2.1	3.0	2.4	3.0	1.9	2.3	3.2	2.7	1.9	2.1	2.9	2.1	1.7	1.2	1.5	2.1	2.0	2.2
29	29	30	31	30	33	33	32	29	29	30	26	29	29	29	30	31	30	30	29
11	10	11	13	6	9	6	7	5	8	8	7	5	7	7	7	6	7	7	7
150.1	150.1	150.4	150.5	151.9	151.3	152.1	152.4	153.3	154.5	154.0	154.9	155.6	156.0	156.4	157.8	158.7	159.0	158.3	159.9
30.3	29.7	30.0	28.7	29.7	29.9	29.3	29.4	30.2	30.6	30.2	29.6	29.8	30.8	30.5	29.5	30.1	31.4	30.4	30.6
1033.2	1048.0	1062.3	1075.2	1089.1	1104.5	1118.0	1133.1	1148.1	1162.6	1175.6	1189.9	1203.1	1217.2	1231.3	1244.9	1260.2	1274.2	1288.0	1301.5
109.9	111.8	113.5	115.4	117.0	119.5	120.1	122.0	120.9	122.9	124.3	125.1	126.1	127.6	128.9	129.5	130.7	132.4	133.7	134.9
2025	2054	2084	2115	2145	2178	2210	2242	2271	2300	2330	2357	2386	2415	2443	2474	2504	2534	2565	2594
373	381	391	401	404	408	406	409	411	419	426	432	436	437	444	446	451	457	461	467

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115
208.2	209.4	210.2	208.8	210.8	212.2	211.9	212.0	212.0	213.8	213.5	214.2	214.3	214.1	214.0	214.3	215.8	216.1	215.7	216.1
25.4	25.3	25.4	25.0	25.1	25.9	25.7	24.7	24.7	25.5	26.1	25.3	25.1	24.8	26.6	25.3	25.1	25.5	25.0	25.0
14.5	15.2	13.1	14.2	13.9	14.3	13.0	14.2	14.8	13.8	13.9	13.1	13.4	15.5	12.8	14.0	13.9	13.8	13.8	13.6
2.1	2.2	1.7	1.8	1.8	2.5	1.1	1.6	2.6	2.9	0.7	1.5	2.3	2.6	1.7	1.8	2.0	2.1	1.8	1.6
31	30	29	31	30	30	27	28	32	27	27	27	26	38	28	31	29	31	29	31
6	5	6	4	9	6	7	6	10	8	7	8	7	21	7	7	8	6	8	6
161.1	161.9	160.5	162.5	163.9	163.6	163.7	163.7	165.5	165.2	165.9	166.0	165.8	165.6	166.0	167.5	167.8	167.4	167.8	168.6
30.4	30.7	30.4	30.3	31.2	30.8	29.9	29.7	30.3	30.9	30.3	29.9	29.4	31.2	30.1	30.0	30.2	29.7	29.8	29.6
1316.0	1331.2	1344.3	1358.6	1372.4	1386.7	1399.7	1413.9	1428.7	1442.5	1456.4	1469.5	1482.9	1498.4	1511.1	1525.1	1539.0	1552.8	1566.6	1580.2
136.1	136.8	138.1	139.1	140.3	142.1	142.5	143.3	144.5	146.4	146.8	147.5	148.6	148.4	149.8	150.8	151.9	153.6	155.1	156.3
2624	2654	2683	2713	2744	2773	2800	2828	2860	2887	2914	2941	2968	3005	3033	3064	3093	3124	3153	3184
472	476	480	484	491	494	500	506	514	521	528	535	541	545	549	554	559	563	570	576

116	117	118	119	120
216.9	218.1	217.7	216.0	216.7
24.8	25.1	25.6	24.7	25.3
14.3	15.2	12.7	12.7	14.4
1.9	2.6	2.0	1.9	2.2
34	33	27	25	30
16	7	6	4	5
169.8	169.4	167.7	168.4	170.0
29.8	30.0	29.0	29.6	30.1
1594.5	1609.7	1622.4	1635.0	1649.4
157.7	160.0	161.1	161.9	163.8
3217	3250	3277	3301	3332
580	583	588	589	594

BIBLIOGRAFÍA

- Abegaz, E. G., Mayhew, D. A., Butchko, H. H., Stargel, W. W., Comer, C. P., Andress, S. E. (2011). Aspartame. En *Alternative Sweeteners*. 4ta ed., pp. 57–76. L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press.
<http://doi.org/10.1201/b11242-7>
- Amancio-Chassin, O., Ortigoza-Ramírez, J. L., Durante-Montiel, I. (2008). Obesidad. En
http://www.facmed.unam.mx/sms/seam2k1/2002/ponencia_jul_2k2.html
- Baduí-Dergal, S. (2006). Aditivos. En *Química de los alimentos*. 4ta ed., pp. 507–545. S. Baduí-Dergal (Ed.), México: Pearson Educación.
- Bakal, A. I., O'Brien Nabors, L. (2011). Saccharin. En *Alternative Sweeteners*. 4ta ed., pp. 151–158. L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press. <http://doi.org/10.1201/b11242-12>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. 4ta ed., vol. 107. Alemania: Springer Berlín Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7>
- Belpoggi, F., Soffritti, M., Padovani, M., Degli Esposti, D., Lauriola, M., Minardi, F. (2006). Results of long-term carcinogenicity bioassay on Sprague-Dawley rats exposed to aspartame administered in feed. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1076:559–577.
- Bruyère, O., Ahmed, H.S., Atlan, C., Belegaud, J., Bortolotti, M., Canivenc-Lavier, M.-C., Charrière, S., Girardet, J.-P., Houdart, S., Kalonji, E., Nadaud, P., Rajas, F., Slama, G., Margaritis, I. (2015). Review of the nutritional benefits and risks related to intense sweeteners. *Archives of Public Health*, 73(1): 41 (10 pags). <http://doi.org/10.1186/s13690-015-0092-x>
- Carakostas, M.C., Curry, L.L., Boileau, A.C., Brusick, D.J. (2008) Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical*

Toxicology. doi: 10.1016/j.fct.2008.05.003

Carakostas, M., Prakash, I., Kinghorn, A. D., Wu, C. D., Soejarto, D. D. (2011).

Steviol Glycosides. En *Alternative Sweeteners*. 4ta ed., pp. 158–180.

L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press.

<http://doi.org/10.1201/b11242-13>

Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2014). Artificial sweeteners – a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4):611–621.

<http://doi.org/10.1007/s13197-011-0571-1>

Curry, L.L., Roberts, A. (2008). Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Food and Chemical Toxicology*, doi: 10.1016/j.fct.2008.04.042

Dawson, G. F. (2009). *Interpretación fácil de la bioestadística. La conexión entre la evidencia y las decisiones médicas*. (1era ed.). Barcelona, España: Elsevier.

DOF (1994). NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. México: Diario Oficial de la Federación.

DOF (1998). NORMA Oficial Mexicana NOM-174-SSA1-1998, Para el manejo integral de la obesidad. México: Diario Oficial de la Federación.

DOF (2001). NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México: Diario Oficial de la Federación.

DOF (2009). DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO. - Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si

la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. México: Diario Oficial de la Federación.

DOF (2012). ACUERDO por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. México: Diario Oficial de la Federación.

DuBois, G. E. (2012). Saccharin and Cyclamate. En *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. 2da ed., pp. 137–166. K. O'Donnell, M. W. Kearsley (Ed.), Chichester, Reino Unido: JohnWiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/9781118373941

Envigo. (2015). Teklad Global 18% Protein Rodent Diet (Sterilizable). Recuperado April 3, 2015, en <http://www.envigo.com/products-services/teklad/laboratory-animal-diets/natural-ingredient/rodent/2018-diets.aspx>

FAO. (2016) Glosario de términos. Recuperado marzo 18, 2016, en <http://www.fao.org/docrep/014/am401s/am401s07.pdf>

FDA. (2014). High-Intensity Sweeteners. Recuperado marzo 18, 2016, en <http://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm397716.htm>

FDA. (2015). Additional Information about High-Intensity Sweeteners Permitted for use in Food in the United States. Recuperado enero 3, 2016, en <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm397725.htm>

Filliben, J. J. (2013). Exploratory Data Analysis. En <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda356.htm#MAD>

Fry, J. C., Meyers, B. I., Mayhew, D. A. (2011). Aspartame-Acesulfame. En *Alternatives Sweeteners*. 4ta ed., pp. 77–92. L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press.

Gad, S. C. (2007). *Animal Models in Toxicology*. Toxicology (2da ed.). Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group.

- Gardener, H., Rundek, T., Markert, M., Wright, C. B., Elkind, M. S. V, Sacco, R. L. (2012). Diet soft drink consumption is associated with an increased risk of vascular events in the Northern Manhattan study. *Journal of General Internal Medicine*, 27(9):1120–1126. <http://doi.org/10.1007/s11606-011-1968-2>
- Grotz, V. L., Molinary, S., Peterson, R. C., Quinlan, M. E., Reo, R. (2011). Sucralose. En *Alternative Sweeteners* .4ta ed., pp. 181–196. L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press. <http://doi.org/10.1201/b11242-14>
- Gutiérrez, J.P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M., Hernández-Ávila, M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Gupta, S., Kalra, S., Bharihoke, V., Dhurandhar, D. (2014). Sucralose induced pancreatic toxicity in albino rats: Histomorphological evidence. *Journal of Morphological Sciences*, 31(2):123–127. <http://doi.org/10.4322/jms.073614>
- Guzmán-Gómez, M.B. (2013). Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia de masa corporal a lo largo de 270 días. México: Tesis Profesional, Facultad de Química UNAM.
- Hilton, A., Armstrong, R. (2006). Stat Note 6, (septiembre), 34–36. En www.sfam.org.uk
- Klug, C., von Rymon-Lipinski, G.-W. (2011). Acesulfame Potassium. En *Alternative Sweeteners*. 4th ed., pp. 13–30. L. O'Brien Nabors (Ed.), Florida, Estados Unidos: CRC Press.
- Koh, A., Cribbie, R. (2013). Robust tests of equivalence for k independent groups. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 66(3):426–434. <http://doi.org/10.1111/j.2044-8317.2012.02056.x>
- Kroger, M., Meister, K., Kava, R. (2006). Low-calorie sweeteners and other sugar substitutes: A review of the safety issues. *Comprehensive Reviews in Food*

Science and Food Safety, 5(2):35–47. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00081.x>

LaMotte, S. (2016). Health effects of artificial sweeteners: Where do we stand? Recuperado mayo 2, 2016, de <http://edition.cnn.com/2016/01/18/health/where-do-we-stand-artificial-sweeteners/>

Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., Kong, A. H. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132(3):1121–1132. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>

Levy, T. S., Amaya, M. A., Cuevas Nasu, L. (2015). Desnutrición y obesidad: doble carga en México, 16(5): 1–17. <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art34/>

Leys, C., Ley, C., Klein, O., Bernard, P., Licata, L. (2013). Detecting outliers: Do not use standard deviation around the mean, use absolute deviation around the median. *Journal of Experimental Social Psychology*, 49(4): 764–766. <http://doi.org/10.1016/j.jesp.2013.03.013>

Lifshitz, A. (2008). Diabetes Mellitus. En http://www.facmed.unam.mx/sms/seam2k1/2002/ponencia_jul_2k2.html

Lin, J., Curhan, G. C. (2011). Associations of sugar and artificially sweetened soda with albuminuria and kidney function decline in women. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6(1):160–166. <http://doi.org/10.2215/CJN.03260410>

Lindley, M. G. (2012). Natural high-potency sweeteners. En *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. 2da ed., pp. 185–207. K. O'Donnell, M. Kearsley (Eds.), Chichester, Reino Unido: John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/9781118373941

Lindsay, R. C. (2008). Food Additives. En *Fennema's Food Chemistry*. 4ta ed., pp.

689–750. S. Damodaran, K. L. Parkin, O. R. Fennema (Eds.), Florida, Estados Unidos: CRC Press. <http://doi.org/10.1080/01932691.2011.584482>

López-García, R. (2015). *Evidencia actual en edulcorantes y salud*. Conferencia presentada en el auditorio del Centro de Convenciones del Hospital Español. 2 de septiembre de 2015. Ciudad de México.

Lorenzo, C., Serrano-Díaz, J., Plaza, M., Quintanilla, C., Alonso, G. L. (2014). Fast methodology of analysing major steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, 157:518–523. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.088>

Martínez, C., González, E., García, R., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., Gracia, I., Tovar, C., Durán-de-Bazúa. (2010). Effects on body mass of laboratory rats after ingestion of drinking water with sucrose, fructose, aspartame, and sucralose additives. *The Open Obesity Journal*, 2:116-124.

Melis, M.S. (1999). Effects of chronic administration of *Stevia rebaudiana* on fertility in rats. *J Ethnopharmacol*, 67(2):157-61.

MERISANT. (2014). Recuperado abril 3, 2016, en <http://www.canderel.com.mx/merisant>

Mitchell, H. (2007). *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. Reino Unido: Blackwell Publishing Ltd. <http://doi.org/10.1002/9780470996003>

Nettleton, J., Lutsey, P., Wang, Y., Lima, J., Michos, E., Jacobs, D. (2009). Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and Type 2 Diabetes in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Diabetes Care*, 32(4):688–694. <http://doi.org/10.2337/dc08-1799>.

Nikiforov A.L., Eapen A.K. (2008). A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside A in Sprague-Dawley rats. *Int. J. Toxicol.*, 27(1):65-80. doi: 10.1080/10915810701876752.

Norman, G. R., Streiner, D. L. (2014). *Biostatistics: The Bare Essentials* (4ta ed.). Shelton, Connecticut.: People's Medical Publishing House.

- O'Brien Nabors, L. (2011). Alternative sweeteners: An overview. *Alternative Sweeteners*. 4ta ed., pp. 1–10. Florida, Estados Unidos: CRC Press.
- O'Donnell, K. (2012). Aspartame, neotame and advantame. En *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. 2da ed, pp. 117–134. K. O'Donnell, M. W. Kearsley (Eds.), New Delhi, India: Blackwell Publishing Ltd. DOI: 10.1002/9781118373941
- Olney, J. W., Farber, N. B., Spitznagel, E., Robins, L. N. (1996). Increasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 55(11):1115–1123.
- Pepino, M. Y., Tiemann, C. D., Patterson, B.W., Wice, B. M., Klein, S. 2013. Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. *Diabetes Care*, 36:2530–2535.
- Planas, G.M., Kuć, J. (1968). Contraceptive properties of *Stevia rebaudiana*. *Science*, 162(3857):1007.
- Prieto Valiente, L., Herranz Tejedor, I. (2010). Bioestadística sin dificultades matemáticas, en busca de tesoros escondidos. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- OMS. (2015). Obesidad y sobrepeso. Recuperado enero 9, 2016, en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
- RAE. (2016). Consulta electrónica Real academia española. <http://dle.rae.es/?id=EOOfs0A>
- Rodríguez-Alegría, M. E., López-Munguía, A. (2014). Estevia ¿Dulzura 100% natural?, ¿Cómo Ves?, 10–14. En <http://www.comoves.unam.mx/numeros/articulo/184/estevia-dulzura-100-natural>
- Rogers, P. J., Hogenkamp, P. S., de Graaf, K., Higgs, S., Lluch, A., Ness, A. R., Mela, D. J. (2015). Does low-energy sweetener consumption affect energy intake and body weight? A systematic review, including meta-analyses, of the

- evidence from human and animal studies. *International Journal of Obesity*, 40:1–58. <http://doi.org/10.1038/ijo.2015.177>
- Rycerz, K., Jaworska-Adamu, J. E. (2013). Effects of aspartame metabolites on astrocytes and neurons. *Folia Neuropathologica*, 51(1):10–17. <http://doi.org/10.5114/fn.2013.34191>
- Saenphet, K., Aritajat, S., Saenphet, S., Manosroi, J., Manosroi, A. (2006). Safety evaluation of aqueous extracts from *Aegle marmelos* and *Stevia rebaudiana* on reproduction of female rats. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 37 (Suppl 3):203-205.
- Sánchez-Alberca, A. (2014). *Bioestadística Aplicada con R y RKT Teaching*. España: Creative Commons.
- Schiffman, S. S., Rother, K. I. (2013). Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: Overview of biological issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 16(7):399–451. <http://doi.org/10.1080/10937404.2013.842523>
- Shankar, P., Ahuja, S., Sriram, K. (2013). Non-nutritive sweeteners: Review and update. *Nutrition*, 29(11-12):1293–1299. <http://doi.org/10.1016/j.nut.2013.03.024>
- Shibamoto, T., Bjeldanes, L. F. (2009). *Introduction to food toxicology* (2da ed.). US: Elsevier Inc.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Degli Esposti, D., Lambertini, L. (2005). Aspartame induces lymphomas and leukaemias in rats. *Eur. J. Oncol.*, 10(2):107-116.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Degli Esposti, D., Lambertini, L., Tibaldi, E., Rigano, A. (2006). First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives*, 114(3):379-385.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Tibaldi, E., Degli Esposti, D., Lauriola, M. (2007). Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life

- increases cancer effects in rats. *Environmental Health Perspectives*, 115(9):1293-1297.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Manservigi, M., Tibaldi, E., Lauriola, M., Falcioni, L., Bua, L. (2010). Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. *American Journal of Industrial Medicine*, 53(12):1197–1206.
- Soffritti, M., Padovani, M., Tibaldi, E., Falcioni, L., Manservigi, F., Belpoggi, F. (2014). The carcinogenic effects of aspartame: the urgent need for regulatory re-evaluation. *American Journal of Industrial Medicine*. 57(4):383–397.
- Soffritti, M., Padovani, M., Tibaldi, E., Falcioni, L., Manservigi, F., Lauriola, M., Bua, F., Manservigi, M., Belpoggi, F. (2016). Sucralose administered in feed, beginning prenatally through lifespan, induces hematopoietic neoplasias in male swiss mice. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 22(1):7-17.
- Statgraphics. (2005). SnapStat: Análisis de Una Muestra. Recuperado abril 8, 2016, de <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/SnapStat-Analisis de Una Muestra.pdf>
- Statgraphics. (2006). ANOVA Multifactorial. Recuperado mayo 24, 2016, de <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/ANOVA Multifactorial.pdf>
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., Elinav, E. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514(7521):181–186.
<http://doi.org/10.1038/nature13793>
- Sugar & Sweeteners. (2016). Recuperado febrero 26, 2016, de <http://www.diabetes.ca/diabetes-and-you/healthy-living-resources/diet-nutrition/sugar-sweeteners>
- Thompson, J. L., Manore, M., Vaughan L. (2011). *The Science of Nutrition*. 2da ed.

Estados Unidos: Pearson. ISBN-13: 9780321643162

Tovar-Pérez, E. G., Ortiz-Hernández, A., Soriano-Santos, J. (2012). Aditivos alimentarios. In M. de la Concepción Calvo-Carrillo, E. Mendoza-Martínez (Eds.), *Toxicología de los alimentos*. 1era ed., pp. 287–305. México: McGraw Hill.

Urban, J. D., Carakostas, M. C., Taylor, S. L. (2015). Steviol glycoside safety: Are highly purified steviol glycoside sweeteners food allergens? *Food and Chemical Toxicology*, 75, 71–78. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2014.11.011>

Valle-Vega, P., Lucas-Florentino, B. (2000). *Toxicología de alimentos*. México D.F. Instituto Nacional de Salud Pública. Centro Nacional de Salud Ambiental. ISBN 92 75 37004 4
<http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Toxicologiaderaliemnatosar.pdf>

Weihrauch, M. R., Diehl, V. (2004). Artificial sweeteners - Do they bear a carcinogenic risk? *Annals of Oncology*, 15(10):1460–1465.
<http://doi.org/10.1093/annonc/mdh256>

Whitehouse, C. R., Boullata, J., McCauley, L. A. (2008). The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN Journal: Official Journal of the American Association of Occupational Health Nurses*, 56(6):251–259.
<http://doi.org/10.3928/08910162-20080601-02>

Yang, Q. (2010). Gain weight by “going diet?” Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings. *Yale J. Biol. Med.*, 83(2):101–108.