



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE EDULCORANTES  
NATURALES Y ARTIFICIALES EN DISOLUCIÓN ACUOSA  
MEDIANTE LA OPTIMIZACIÓN DE UNA TÉCNICA DE  
CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**JESSICA IVONNE FLORES SERRANO**



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2021



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 DE BAZÚA  
**VOCAL:** M. EN C. AGUSTÍN REYO HERRERA  
**SECRETARIO:** M. EN A.I. LANDY IRENE RAMÍREZ BURGOS  
**1er SUPLENTE:** M. EN C. ROLANDO SALVADOR GARCÍA GÓMEZ  
**2do SUPLENTE:** DRA. MARISELA BERNAL GONZÁLEZ

### **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.

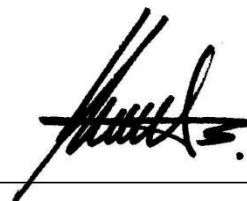
### **ASESORA DEL TEMA:**

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa




### **SUPERVISORA TÉCNICA:**

Dra. Marisela Bernal González



### **SUSTENTANTE:**

Jessica Ivonne Flores Serrano



## RECONOCIMIENTOS

Al proyecto PAPIIT IN217619 de la DGAPA de la UNAM “Efecto del consumo de edulcorantes sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y lipogénesis en extractos de hepatocitos y sus implicaciones metabólicas sobre el exceso de masa corporal y la obesidad” por el apoyo recibido para la adquisición de los materiales y reactivos conducentes para la realización de esta tesis. Asimismo, se recibió apoyo de la DGAPA de la UNAM mediante los proyectos PAPIME Claves EN-103704, PE-101709 y PE-1005-14 y del Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM (PAIP) Claves 50009065 y 50009067 para la adquisición de los materiales y equipos pequeños para la innovación en la docencia (asignatura Estancia Estudiantil)

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por su sabia orientación y apoyo a lo largo de este trayecto

Al Maestro en Ciencias Químicas Rolando Salvador García Gómez por todo el apoyo recibido durante la Estancia Estudiantil y posteriormente la supervisión recibida durante el desarrollo de esta tesis

A la Dra. Marisela Bernal González por su asesoría académica durante la realización experimental del equipo de CLAR

Al personal académico, administrativo y operativo de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental por el apoyo brindado para realizar esta investigación

## DEDICATORIAS

**A mis padres Blanca y Oscar**, gracias por su apoyo y cariño incondicional, gracias por guiarme y aconsejarme en los momentos más difíciles, siempre me brindaron su apoyo y me motivaron constantemente para alcanzar mis metas. Gracias por los valores que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación.

**A mi hermano Oscarin**, gracias por ser un ejemplo y por guiarme por el mejor camino, gracias por tus sabios consejos y por amenizar mis días con tu buen sentido del humor.

**A mis amigos**, gracias por brindarme su apoyo en todo momento, gracias por formar parte de una de las mejores etapas de mi vida ya que sin ustedes mi estancia en la Universidad no hubiera sido la misma, gracias por sus consejos y por las charlas interminables.

Gracias a todos los profesores por su tiempo, dedicación y conocimientos brindados, así como las enseñanzas académicas, profesionales y personales. Gracias por impulsarme al cumplimiento de esta meta.

# DECLARATORIA

"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"

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line. The signature is cursive and appears to read 'Jessica Ivonne Flores Serrano'.

Jessica Ivonne Flores Serrano

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>GLOSARIO</b>	8
<b>ABREVIATURAS</b>	9
<b>RESUMEN</b>	10
 <b>CAPÍTULO I. PROBLEMÁTICA</b>	
1.1. Introducción	11
1.2. Justificación	12
1.3. Hipótesis de trabajo	12
1.4. Objetivo general	13
1.5. Objetivos particulares	13
 <b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</b>	
2.1. Edulcorantes	14
2.2. Principales edulcorantes calóricos	14
2.2.1. Glucosa	15
2.2.2. Sacarosa	17
2.2.3. Fructosa	18
2.3. Jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) y su impacto en la industria de alimentos	19
2.4. Efectos en la salud por el consumo de glúcidos mal llamados ‘azúcares’	20
2.5. Principales edulcorantes hipocalóricos	21
2.5.1. Sacarina	22
2.5.2. Aspartame	23
2.5.3. Acesulfame de potasio	25
2.5.4. Sucralosa	27
2.6. Métodos para la determinación de edulcorantes	29
2.7. Cromatografía de líquidos de alta resolución	29
2.8. Instrumentación de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución	31
2.8.1. Fase móvil	32
2.8.2. Sistema de bombeo	32
2.8.3. Inyector	33
2.8.4. Columna	33
2.8.5. Detector	34
2.8.6. Sistema de registro de datos	35
 <b>CAPÍTULO III. METODOLOGÍA</b>	
3.1. Material	36
3.2. Muestra	36
3.3. Reactivos	38
3.4. Equipo	38
3.5. Preparación de la fase móvil	38
3.6. Curvas de calibración	39

	<b>Página</b>
3.7. Análisis de edulcorantes calóricos e hipocalóricos y pruebas estadísticas	39

#### **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. Condiciones cromatográficas	40
4.2. Realización de las curvas de calibración	41
4.3. Precisión del método	43
4.4. Análisis de bebidas suministradas a ratas	46
4.5. Análisis estadístico de los datos	47

#### **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1. Conclusiones	50
5.2. Recomendaciones	51

<b>ANEXO 1.</b> Curvas de calibración	52
---------------------------------------	----

<b>ANEXO 2.</b> Resultados de los análisis de las bebidas suministradas a ratas	57
---	----

<b>ANEXO 3.</b> Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	58
---	----

<b>Bibliografía</b>	59
---------------------	----

#### **Índice de Tablas**

Tabla 1.	Características de las muestras	36
Tabla 2.	Condiciones cromatográficas y tiempo de retención de los edulcorantes analizados	40
Tabla 3.	Pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación de las diferentes curvas de calibración	42
Tabla 4.	Resultados de la precisión obtenida para cada edulcorante	45
Tabla 5.	Resultados del análisis de bebidas administradas a ratas	46
Tabla 6.	Comparación entre las concentraciones obtenidas	47
Tabla 7.	Resultados de la prueba t de Student	48
Tabla 8.	Curva de calibración de acesulfame de potasio	52
Tabla 9.	Curva de calibración de fructosa	53
Tabla 10.	Curva de calibración de sacarosa	54
Tabla 11.	Curva de calibración de glucosa	55
Tabla 12.	Curva de calibración de aspartame	56
Tabla 13.	Análisis de bebidas suministradas a ratas	57

#### **Índice de Figuras**

Figura 1.	Estructura química de la glucosa	16
Figura 2.	Estructura química de la sacarosa	17
Figura 3.	Estructura química de la fructosa	19



	<b>Página</b>
Figura 4.	Estructura química de la sacarina 22
Figura 5.	Estructura química de aspartame 23
Figura 6.	Estructura química de acesulfame de potasio 25
Figura 7.	Estructura química de sucralosa 27
Figura 8.	Diagrama de bloques que muestra los componentes de un aparato característico de CLAR marca Perkin-Elmer 31
Figura 9.	Curva de calibración de acesulfame de potasio 42
Figura 10.	Curva de calibración de aspartame 43
Figura 11.	Curva de calibración de fructosa 44
Figura 12.	Curva de calibración de sacarosa 44
Figura 13.	Curva de calibración de glucosa 45
Figura 14.	Diagrama de flujo del procedimiento y los residuos producidos en esta investigación 58

## **GLOSARIO DE TÉRMINOS**

Baño ultrasónico	Aparato emisor de ondas ultrasónicas
Biotransformación	Proceso de modificación estructural de una sustancia una vez que se ha introducido en el organismo
Dislipidemia	Alteración de los niveles de lípidos en la sangre
Hidrólisis	Desdoblamiento por la molécula de ciertos compuestos orgánicos por acción del agua
Higroscopicidad	Propiedad de algunas sustancias de absorber la humedad dependiendo de donde se encuentren
Hiperlipidemia	Alteraciones del metabolismo de las grasas que da lugar a un aumento de una o varias fracciones lipídicas en la sangre
Isomerización	Proceso químico mediante el cual una molécula es transformada en otra que posee los mismos átomos, pero dispuestos de forma distinta
Melazas	Sustancia viscosa que se genera como residuo durante la producción de azúcar
Mutarrotación	Fenómeno de isomerización que ocurre en monoglúcidos referido a la rotación que sufre el carbono anomérico al pasar de un confórmero al otro
Polihidroxialdehído	Compuestos orgánicos en los que todos los átomos de carbono están unidos a un grupo hidroxilo excepto uno de ellos que forma parte de un grupo aldehído
Polihidroxicetona	Compuestos orgánicos en los que todos los átomos de carbono están unidos a un grupo hidroxilo excepto uno que forma parte de un grupo cetona
Reacción de Maillard	Conjunto complejo de reacciones químicas que se producen entre las proteínas y los glúcidos reductores que se dan al calentar los alimentos

Remolacha	Es una planta herbácea anual o perenne, de porte erecto y que alcanza hasta 2 m de alto. Es ramificada y frondosa, de color verde a púrpura y tiene raíces delgadas o tuberosas de la cual se extrae el azúcar (sacarosa)
Resabio	Sabor desagradable que deja una cosa
Sinérgico	Acción combinada de sustancias químicas, que provoca un efecto mayor en comparación si solo se usaran por separado

### ABREVIATURAS EMPLEADAS EN ESTA TESIS

%	Porcentaje
°C	Grados centígrados
μL	Microlitros
A	Significancia estadística
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
cm	Centímetros
CV	Coefficiente de variación
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FDA	Administración de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos de los Estados Unidos
g/d	Gramo por día
g/L	Gramo por litro
g/mol	Gramo por mol
IDR	Ingesta diaria recomendada
JECFA	Comité Mixto FAO/OMS de Expertos sobre Aditivos Alimentarios
JMAF	Jarabe de maíz de alta fructosa
kcal	Kilocaloría
kg	Kilogramo
kPa	Kilopascal
lbf/in <sup>2</sup>	Libra por pulgada cuadrada
M	Molar
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Significancia estadística
pH	Medida de acidez o basicidad de una sustancia
ppm	Partes por millón
psi	Libras por pulgada cuadrada
SCF	Comité Científico de Alimentos de la OMS
UV	Absorción ultravioleta

**Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)**

## RESUMEN

En las últimas décadas los malos hábitos alimenticios provocados en su mayoría por el consumo elevado de glúcidos, de sustancias químicas cuyos efectos no se han estudiado con detenimiento, así como el alto índice de sedentarismo ha ocasionado un aumento significativo de obesidad y diabetes en la población mundial, si bien se sabe que actualmente en México y en los Estados Unidos se tienen los índices más altos de obesidad en adultos. Sin hacer un estudio profundo de esta problemática, se implementaron aún más las adiciones de sustancias químicas a los alimentos y bebidas no alcohólicas supuestamente para revertir estos daños a la salud. En esta investigación se están estudiando los efectos de los edulcorantes tanto nutritivos como no nutritivos en la salud usando animales modelo. En esta parte específica de la investigación se desarrolló una metodología experimental empleando cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para cuantificar la concentración a la que se encuentran esos edulcorantes adicionados al agua que esos animales modelo beben diariamente, como un sistema interno de control de calidad. Los edulcorantes estudiados, dentro de los nutritivos, fueron la glucosa, la fructosa y la sacarosa y dentro de los no nutritivos o hipocalóricos estuvieron la sacarina, el aspartame, la sucralosa, el acesulfame de potasio y la mezcla de acesulfame de K con aspartame. Estas bebidas eran preparadas diariamente para su suministro a ratas hembra y macho de la estirpe Wistar en una disolución acuosa como un sistema de control de calidad interno para los 14 meses de experimentación. Los edulcorantes se analizaron por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) con fase reversa, utilizando un detector de absorbancia UV para los edulcorantes fructosa, sacarosa, aspartame y acesulfame de potasio, mientras que para la glucosa se utilizó un detector de índice de refracción y una columna C-18, realizando previamente las curvas de calibración de cada edulcorante utilizado en el estudio. El método establecido demostró ser preciso, exacto y específico, cumpliendo con los criterios establecidos para la validación de los métodos analíticos. El diseño experimental planteado, así como las condiciones cromatográficas permitió detectar y cuantificar los edulcorantes nutritivos (glucosa, sacarosa, fructosa) y no nutritivos o hipocalóricos (aspartame, acesulfame de potasio) mediante cromatografía de líquidos de alta resolución. De acuerdo con la t de Student, a un nivel de significancia de 0.05, para aspartame y fructosa, las concentraciones obtenidas por CLAR no tuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto de la concentración que debía ser suministrada a las ratas. Hubo pequeñas diferencias, no significativas ( $p > 0.05$ ), entre las concentraciones experimentales encontradas mediante CLAR para la fructosa. Esto podría ser debido a la preparación o dilución de la muestra por lo que, para verificar que la preparación de la muestra no haya sido la causa que influyó en esa diferencia, se deberá investigar inyectando un mayor número de muestras experimentales al azar para verificar que estas pequeñas discrepancias hayan sido atribuidas ya sea al momento de la inyección de los edulcorantes en el equipo CLAR o en la preparación de las muestras.

Palabras clave: Edulcorantes naturales y artificiales, disoluciones acuosas, cromatografía líquida de alta resolución, CLAR

# CAPÍTULO I

## PROBLEMÁTICA

### 1.1. Introducción

Muchas especies por supervivencia han mostrado una preferencia marcada por el sabor dulce, asociado directamente a energía fácilmente metabolizable. La humanidad no es la excepción. Por ello, los edulcorantes alimentarios han sido introducidos como aditivos que proporcionan dulzor a los alimentos y bebidas con la finalidad de incrementar el placer ante su consumo. Los edulcorantes pueden dividirse en nutritivos o energéticos (calóricos) y en no nutritivos o hipoenergéticos (hipocalóricos), siendo los edulcorantes nutritivos o energéticos los más utilizados en la dieta. Estos se conocen comúnmente como carbohidratos o glúcidos, entre los que se encuentran la glucosa, la sacarosa y la fructosa. Cabe recalcar que la tasa de consumo de fructosa en la dieta, principalmente en combinación con glucosa, ha aumentado en todo el mundo durante los últimos cincuenta años porque se convirtió en un componente importante de la dieta moderna a través de una mayor ingesta de jarabe de maíz alto en fructosa que se agrega actualmente a las bebidas y los alimentos.

El resultado de diversos estudios que se han implementado sobre el consumo de edulcorantes nutritivos sugiere que una dieta elevada de estos se asocia con diversas patologías como exceso de masa corporal, obesidad, alteraciones hepáticas, desórdenes del comportamiento, diabetes, hiperlipidemia, enfermedad cardiovascular, hígado graso, algunos tipos de cáncer y caries dentales. Actualmente, se hace uso de los edulcorantes no nutritivos o hipocalóricos para reemplazar total o parcialmente los glúcidos añadidos a los alimentos. Así, han surgido investigaciones acerca de los efectos adversos a la salud de algunos de ellos y también existen otras investigaciones que hablan de su inocuidad. Ante esta controversia, resulta esencial conocer los efectos y la seguridad de estos aditivos para trasladar una información clara a los consumidores.

Por ello, existen equipos analíticos y metodologías que permiten separar, identificar y cuantificar la concentración de los edulcorantes en los alimentos, siendo la cromatografía de líquidos de alta resolución la más utilizada para la cuantificación y separación individual y simultánea de los edulcorantes hipocalóricos y calóricos. En esta investigación se desarrolló un método experimental empleando (CLAR), que permitió cuantificar la concentración en la que se encuentran los edulcorantes calóricos (glucosa, fructosa y sacarosa) e hipocalóricos (sacarina, aspartame, sucralosa, acesulfame de K y la mezcla de acesulfame de K y aspartame), suministrados diariamente en disolución acuosa como sistema de control de calidad interno para un experimento con ratas Wistar que incluyó 14 días de la duración completa del experimento, que era de 14 meses (Mendoza-Pérez, 2020).

## **1.2. Justificación**

La finalidad de esta investigación es el planteamiento y desarrollo de una metodología que se base en la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para el análisis y la cuantificación de edulcorantes nutritivos (glucosa, sacarosa, fructosa) y no nutritivos o hipocalóricos (aspartame, acesulfame de potasio, sacarina, y sucralosa) con objeto de corroborar que las bebidas preparadas diariamente para ser administradas a las ratas Wistar, con una dieta ya constituida, sean exactamente lo considerado en este experimento biológico, como un control de calidad interno para los 14 meses de experimentación.

## **1.3. Hipótesis de trabajo**

El diseño experimental empleando cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) permitirá cuantificar los edulcorantes nutritivos y no nutritivos o hipocalóricos utilizados en las bebidas preparadas que son suministradas a las ratas de la estirpe Wistar.

Las concentraciones cuantificadas al emplear cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) serán similares a las encontradas en las bebidas no alcohólicas suministradas.

#### **1.4. Objetivo principal**

Identificar y cuantificar el contenido de edulcorantes naturales y artificiales mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) de muestras suministradas durante 14 meses a ratas hembra y macho de la estirpe Wistar como sistema de control de calidad.

#### **1.5. Objetivos específicos**

Establecer las condiciones cromatográficas como la fase móvil, la longitud de onda y el flujo, para así llevar a cabo las curvas de calibración de cada edulcorante nutritivo (glucosa, sacarosa y fructosa) y no nutritivo o hipocalórico (sacarina, sucralosa, acesulfame de K y aspartame).

Determinar el coeficiente de variación y la diferencia significativa de los 7 edulcorantes empleados.

Cuantificar y analizar las bebidas suministradas a las ratas para establecer si existe alguna diferencia significativa entre las concentraciones reportadas y las concentraciones obtenidas mediante CLAR de cada edulcorante de estudio.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. Edulcorantes**

La selección y el consumo de alimentos en el hombre desempeñan un papel crucial en la regulación del apetito humano y la ingesta de nutrientes, por lo que desde tiempos ancestrales la humanidad ha tenido una marcada preferencia hacia los alimentos dulces. (Durán *et al.*, 2013). Es así como surge el término edulcorante, el cual es definido como cualquier sustancia, natural o artificial, que se caracteriza por tener un sabor dulce, que es utilizada en alimentos y bebidas contribuyendo para dar cuerpo y textura, así como proporcionar un importante aporte energético y actuar como conservadores (Romo, 2018).

En cuanto a su clasificación global, ante la gran variedad de tipos existentes, los edulcorantes se pueden agrupar en función de su contenido calórico (calóricos o acalóricos), según su origen (natural o artificial) o incluso según su estructura química, sin embargo, lo más habitual es dividirlos de acuerdo a su aporte energético significativo o no, en edulcorantes nutritivos o energéticos o calóricos y en edulcorantes no nutritivos o hipocalóricos. Si bien todos los edulcorantes tienen en común la capacidad de inducir percepciones de dulzor, estos compuestos son muy diversos en su estructura química, sus propiedades fisicoquímicas, su metabolismo y su vía de excreción (García *et al.*, 2013).

#### **2.2. Principales edulcorantes calóricos**

Los edulcorantes nutritivos o energéticos pertenecen a la clase general de sustancias llamadas hidratos de carbono o carbohidratos. Los carbohidratos son moléculas basadas en el carbono y ricas en grupos hidroxilo (-OH). De hecho, la fórmula empírica de muchos carbohidratos es  $(CH_2O)_n$ . Los carbohidratos sencillos se denominan monosacáridos. Los carbohidratos complejos —polímeros de monosacáridos unidos covalentemente— se denominan

polisacáridos. Un polisacárido puede ser muy simple, como cuando está formado por dos monosacáridos idénticos. O puede ser muy complejo, como cuando está formado por docenas de monosacáridos distintos que se unen para formar un polisacárido compuesto por millones de monosacáridos (Tymoczko et al., 2014). Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la materia orgánica de la Tierra y tienen varias funciones en los seres vivos. Sirven como almacén de energía, combustibles e intermediarios metabólicos (Cárabez y Chavarría, 2013). Aportan genéricamente 4 kcal/g y se encuentran disponibles en productos como bebidas endulzadas, golosinas, cereales para desayuno, bizcochos, dulces, entre otros (Navarro, 2006).

Los monoglúcidos o glúcidos sencillos son carbohidratos que no se pueden llegar a hidrolizar en moléculas más simples. En esta categoría se encuentran la glucosa la cual es un polihidroxialdehído y la fructosa la cual es una polihidroxiketona. Por otro lado, los diglúcidos se pueden hidrolizar en dos glúcidos sencillos, tal es el caso de la sacarosa, comúnmente conocida como azúcar de mesa, la cual está constituida con una molécula de glucosa y una de fructosa. Tanto los monoglúcidos como los diglúcidos son altamente solubles en agua y la mayoría tiene la característica del sabor dulce asociado a los glúcidos (Wade et. al., 2004).

En general los edulcorantes calóricos en los alimentos facilitan una serie de propiedades funcionales: aportan características únicas sensoriales por el sabor de las melazas, influyen en la cristalización y viscosidad de los alimentos mejorando su cuerpo y su textura, ayudan al control de microorganismos en procesos de fermentación, sirven como conservadores alargando la vida de anaquel y también influyen en los procesos químicos como las reacciones de Maillard y las reacciones de caramelización (Navarro, 2006).

### **2.2.1. Glucosa**

La glucosa, es el carbohidrato y el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza; pertenece a la clase de los carbohidratos denominados monoglúcidos. Los monoglúcidos son moléculas de carbohidratos que no pueden ser degradadas a moléculas de carbohidratos más simples por hidrólisis, por lo que son conocidos a menudo como glúcidos simples. Esta molécula está compuesta por carbono, hidrógeno y oxígeno cuya fórmula es  $C_6H_{12}O_6$ , con una masa molecular de 180.156 g/mol, es un monómero o monosacárido con seis carbonos unidos



en línea. El primer carbono es un grupo carbonilo H-C=O; los demás carbonos tienen grupos hidroxilos OH. La glucosa en solución acuosa tiene una estructura cíclica o en anillo, resultado de la reacción del carbono 1 con el oxígeno del OH del carbono 5 (Martínez-Montes et al., 2013).

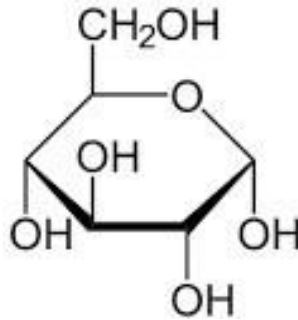


Figura 1. Estructura química de la glucosa (Baduí, 2006)

La glucosa anhidra forma cristales incoloros o blancos que tienen un punto de fusión de 146 °C mientras que el hidrato funde a 83 °C. Es menos soluble en agua que la sacarosa; las soluciones saturadas contienen 49.4 % a 23 °C y 54.6 % a 30 °C, de glucosa anhidra, por masa (Jeréz-López, 2008).

La glucosa es el compuesto que sirve de fuente de energía para los seres vivos, es una materia prima y un producto importante a nivel mundial, además es la unidad constituyente del almidón, de la celulosa y del glucógeno y por su función principal en procesos biológico es considerada el monoglúcido más importante.

Se encuentra en la caña de azúcar en cantidades variables, así como la remolacha y los productos que se obtiene durante su elaboración. La glucosa se obtiene por la hidrólisis ácida o enzimática del almidón, industrialmente se produce el jarabe de glucosa el cual consiste de una disolución acuosa compuesta de glucosa, fructosa, maltosa, oligosacáridos y polisacáridos, que contienen una proporción diferente entre unos y otros dependiendo del método de hidrólisis y grado de conversión. Es importante para la industria alimenticia ya que impide la cristalización de la sacarosa y otros glúcidos, tiene la capacidad de bajar el punto de congelación de algunas soluciones, obtiene buena higroscopicidad, también controla la

coloración morena de los glúcidos reductores en la superficie durante la cocción (Gerena-Baron, 2013).

### 2.2.2. Sacarosa

La sacarosa abunda en la mayoría de las frutas de forma natural. Las fuentes comerciales, aparte de la caña de azúcar (16 %), son la remolacha azucarera (20 %) y en menor volumen el árbol de arce, ciertas palmas, y el sorgo dulce que se usa para la fabricación de jarabe. La sacarosa es un disacárido constituido de glucosa y fructosa, tiene la fórmula  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , con una masa molecular de 342.3 g/mol. No contiene ningún átomo de carbono anomérico libre, puesto que los carbonos anoméricos de sus dos unidades de monosacáridos se hallan unidos entre sí mediante un enlace glucosídico, por lo que la sacarosa no es un glúcido reductor (Baduí, 2006).

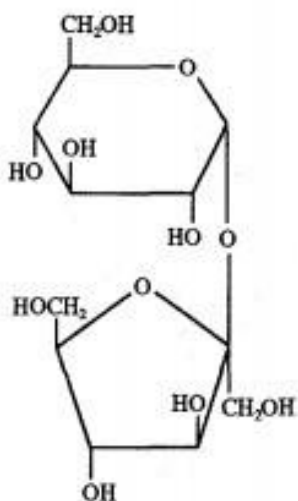
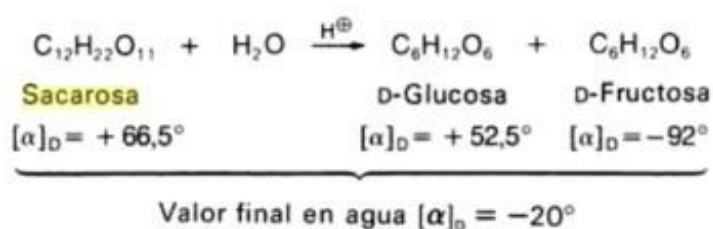


Figura 2. Estructura química de la sacarosa (Fennema, 2010)

La sacarosa es una sustancia soluble en el agua que cristaliza en forma monocíclica característica; el punto de fusión de los cristales es aproximadamente 184 °C; es fácilmente soluble en agua, alcohol etílico y amoníaco diluidos, prácticamente insoluble en el alcohol etílico anhidro, en éter, en cloroformo y en glicerol anhidro. No presenta mutarrotación por lo que cristaliza fácilmente. La sacarosa es el compuesto más utilizado para endulzar alimentos,

en la comparación del dulzor se emplea frecuentemente la sacarosa como sustancia patrón con valor de 100 (Jeréz-López, 2008).

La sacarosa forma prismas monocíclicos que se disuelven fácilmente en agua. Los ácidos minerales diluidos hidrolizan a la sacarosa, originando una molécula de D-glucopiranososa y otra de D-fructopiranososa. Puesto que la fructosa gira el plano de polarización de la luz hacia la izquierda una cantidad mayor que la glucosa a la derecha, el carácter dextrógiro de la sacarosa se transforma en levógiro tras su hidrólisis, denominándose inversión de la sacarosa y la mezcla resultante es un glúcido invertido.



La inversión de la sacarosa con ácidos diluidos transcurre mucho más rápidamente que la hidrólisis de otros disacáridos, siendo la velocidad proporcional a la concentración de iones hidrógeno. Por acción de enzimas específicas como sacarasa e invertasa se invierte la sacarosa y después fermenta por acción de levaduras. Por calentamiento de la sacarosa por encima del punto de fusión (170 °C) se obtiene una variedad de sustancias responsables del color, sabor y olor a caramelo (Queneau et al., 2007).

### 2.2.3. Fructosa

La fructosa es un monosacárido de la familia de las hexosas, con fórmula química C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, entre sus principales fuentes naturales se encuentran las frutas y la miel que incluso puede contener hasta 50 % de este glúcido y entre los alimentos industrializados se encuentran las bebidas carbonatadas, jugos y frutas en almíbar. Su masa molecular es de 180.16 g/mol. En estado puro es un cristal blanco, soluble en agua, alcohol y éter, su punto de fusión es de 103 a 105 °C. La mayor parte de la fructosa se obtiene de la hidrólisis del almidón de maíz a glucosa seguido por la isomerización de glucosa a fructosa, sin descartar lo que se produce de otras fuentes ricas en carbohidratos, también por hidrólisis de la inulina o por hidrólisis de sacarosa seguida de la separación con hidróxido de calcio (Salazar y Peñaranda, 2012).

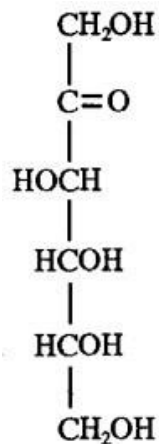


Figura 3. Estructura química de la fructosa (Fennema, 2010)

La tasa de consumo de fructosa en la dieta, principalmente en combinación con glucosa, ha aumentado en todo el mundo durante los últimos cincuenta años y estudios previos en humanos y animales demostraron un vínculo con el aumento de la prevalencia de obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico. En comparación con la glucosa, la fructosa tiene un índice glucémico más bajo, no genera una respuesta de la insulina, y presenta una capacidad edulcorante ligeramente mayor. En los últimos años, la fructosa ha recibido mucha atención negativa por los resultados de estudios que sugieren que el consumo excesivo de fructosa produce resultados metabólicos desfavorables, tales como, un aumento del contenido de grasa intrahepática, una menor sensibilidad a la insulina, dislipemia y cambios en la adiposidad (Cabezas-Zabala et al., 2016).

### **2.3. Jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) y su impacto en la industria de alimentos**

El jarabe de maíz de alta fructosa es un líquido producto de la reacción enzimática de jarabe de glucosa que ha cruzado por una columna que contiene la enzima isomerasa y que contiene una mezcla de glucosa y fructosa (58 y 42%, respectivamente). El JMAF se creó por la necesidad industrial de obtener un edulcorante natural equiparable a la caña de azúcar, pero sin los costos de la sacarosa, el cual tuviera un dulzor similar y cuya elaboración pudiera realizarse sin estar sujeta a la temporalidad y la especulación de precios que presenta la caña

de azúcar. Otra de las razones de su creación es su empleo en la industria de las bebidas, principalmente en la demandante industria refresquera debido a que normalmente son obtenidos por procesos de desmineralización poseen un valor bajo de cenizas, lo que incrementa la claridad y disminuye el riesgo de turbidez o floculación que puede lograr a presentar una bebida endulzada con sacarosa.

La potenciación de sabores hace que los JMAF un elemento importante en la fabricación de bebidas ya que no enmascara defectos en la bebida y no ofrece resabio por lo que los sabores son más puros y mejor apreciados. En cuanto a la calidad microbiológica debido a los procesos enzimáticos bajo los que son producidos permite ser un agente antimicrobiano natural por su alta presión osmótica la misma que detiene la acción de los microorganismos y ofrece una mayor estabilidad al producto. Otros sectores de la industria alimentaria donde los JMAF tienen un gran impacto son en la industria de la confitería, en alimentos como dulces, chocolates malvaviscos, chicles y otras golosinas y en la industria láctea en alimentos como quesos, aderezos, leches condensadas, evaporadas, helados crema, postres de leche, etc. (Quezadas-Jardón, 2012).

## **2.4. Efectos en la salud por el consumo de glúcidos<sup>1</sup>**

Las células del sistema nervioso central, así como los glóbulos rojos y blancos dependen en gran medida de la glucosa ya que utilizan esta sustancia como fuente de energía (equivalente al combustible de un automotor). La cantidad mínima de glucosa que necesita el cerebro de un adulto está entre 110 y 140 g/d y esta cantidad puede ser cubierta con el consumo de carbohidratos en la dieta diaria. Actualmente, varios estudios correlacionan el consumo de alimentos altos en glúcidos y bebidas endulzadas con el impacto negativo en la salud como diferentes alteraciones fisiológicas y metabólicas (García-Almeida et al., 2013). Por citar algunos ejemplos, se encuentran las alteraciones psicológicas como la hiperactividad, el síndrome premenstrual e incluso enfermedades mentales, debido a los efectos que se han identificado sobre el estado de ánimo y el comportamiento. También este consumo elevado de

---

<sup>1</sup> Mal llamados azúcares o sacáridos ya que ninguno tiene sacarosa o azúcar siendo estos nombres aplicables solamente a la molécula derivada del jugo de caña y de remolacha (diglúcido formado por glucosa y fructosa)

glúcidos, se asocia con el aumento de condiciones adversas como caries dental, exceso de masa corporal, mal llamada ‘sobrepeso’, obesidad, enfermedad cardiovascular, dislipidemia, hígado graso, diabetes y algunos tipos de cáncer como pulmón, mama, próstata y colorrectal (Serra-Majem et al., 2014, Rippe y Angelopoulos, 2016), aunque en este rubro hay mucha controversia ya que otros autores indican que esto no ocurre con todos los glúcidos (González-Filomeno, 2007; Martínez et al., 2010; Martínez-Tinajero, 2010; Martínez-Tinajero et al., 2007, 2008; Mendoza-Pérez, 2017; Mendoza-Pérez et al., 2019, 2021a,b).

## **2.5. Principales edulcorantes hipocalóricos**

Los edulcorantes hipocalóricos son aditivos alimentarios los cuales representan una buena alternativa para sustituir los sabores dulces sin la respuesta fisiológica que genera el consumo de glúcidos. Por sí solos no son herramientas para el control de la masa corporal. Su utilidad radica en proporcionar el agradable sabor dulce a bebidas y alimentos (Aldrete-Velasco et al., 2017). Según sus fabricantes se caracterizan por no aportar energía o por proporcionar cantidades poco significativas, resultando un producto con menor aporte calórico, además poseen un mayor poder endulzante que la sacarosa (30 a 300 veces) y son más económicos (Hamilton et al., 2013).

El primer edulcorante artificial utilizado fue la sacarina fue descubierto por Remson y Fahlberg en 1878 en la Universidad Johns Hopkins, Baltimore (Chattopadhyay et al., 2014). Se utilizó principalmente a nivel industrial y como parte de la alimentación de diabéticos. La sacarina es considerada el edulcorante más antiguo y presenta un poder edulcorante 300 veces mayor que el de la sacarosa. La ingesta diaria recomendada (IDR) de sacarina es de 0-15 mg/kg/ día (Durán et al., 2013). Años después, se empezaron a comercializar nuevos edulcorantes artificiales, como el aspartame, el cual apareció en 1965; presenta un poder edulcorante de 150 a 200 veces más en relación con la sacarosa y su IDR recomendada no debe pasar de 40 mg/ kg/día. Por otro lado, el acesulfame de potasio, cuya IDR es de 0-15 mg/kg/día, se descubrió en 1967 y es hasta 200 veces más dulce que el azúcar común. La sucralosa, la cual apareció en 1979, tiene una IDR de 0-15 mg/kg/día, es 600-700 veces más

dulce que el azúcar y de los edulcorantes artificiales es el de mayor consumo (Stephens-Camacho et al., 2018).

### 2.5.1. Sacarina

Es conocida como el edulcorante no calórico de mayor antigüedad, fue descubierta de manera casual en 1879 por Fahlberg y Remsen, su uso comercial data desde 1901 como endulzante de bebidas (Serra-Majem et al., 2014).

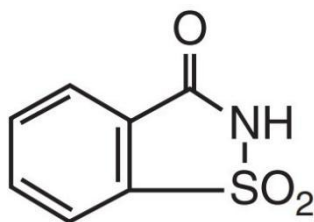


Figura 4. Estructura química de la sacarina (Baduí, 2006)

La sacarina es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa, hasta concentraciones equivalentes a una solución de sacarosa al 10 %, el intervalo es de 200 a 700 veces la capacidad edulcorante de la sacarosa dependiendo de la concentración y de la textura del alimento. La sacarina produce un resabio amargo y metálico, su efecto es tanto más evidente cuanto más se incrementa su concentración; por lo que se usa en mezclas con otros edulcorantes, destacando las establecidas con ciclamato y aspartame (Fennema, 2010). Es un polvo blanco cristalino anhidro, no higroscópico y poco soluble, tiene una masa molecular de 183.18 g/mol, su solubilidad es de 3.4 g/L a 25 °C y la de sacarina de sodio<sup>2</sup> es de 667 g/L a 25 °C. Como el compuesto original solo es escasamente soluble en agua, el edulcorante se usa generalmente como la sal de sodio o calcio. Ambas sales son altamente solubles en agua, siendo la sal de sodio la que mayor poder edulcorante presenta. Tiene elevada estabilidad a tratamientos térmicos, ya que es estable hasta 500 °C y tiene una gama amplia de pH 2-9 (Sánchez-Gómez, 2014).

---

<sup>2</sup> El sodio, el potasio, el ión amonio, el calcio, etc., exhiben solamente una valencia por lo que no hay compuestos sódicos o sodosos, ni potásicos o potasosos, ni amónicos o amoniosos, ni cálcicos o calzosos por lo que estos términos no debieran ser usados por las empresas que los manufacturan y no se usarán en esta tesis (nota de la asesora)

La *FDA* intentó prohibir la sacarina en 1977 porque los estudios en animales habían demostrado que causaba principalmente cáncer de vejiga en ratas; desde entonces se han realizado muchos estudios sobre sacarina. Ningún estudio ha demostrado una relación causal clara entre el consumo de sacarina y los riesgos para la salud en humanos a dosis normales. Aunque algunos estudios han demostrado una correlación entre el consumo y la incidencia de cáncer actualmente se permite el uso de la sacarina bajo una regulación provisional que especifica las cantidades de sacarina permitidas en bebidas, alimentos procesados y sustitutos del azúcar y requiere que el nivel del producto debe indicar la sacarina en la declaración de ingredientes y especificar la cantidad utilizada (Kroger et al., 2006).

### 2.5.2. Aspartame

El aspartame fue descubierto en 1965 por James Schlatter, quien realizaba una investigación con aminoácidos para desarrollar un tratamiento contra las úlceras y derramó por accidente un poco de sustancia sobre su mano; cuando se lamió el dedo, se dio cuenta de que tenía un sabor dulce. Su denominación química es L-aspartil-L-fenilalanina-metiléster, su fórmula molecular es  $C_{14}H_{18}N_2O_5$ . Es un polvo blanco cristalino sin olor y poco soluble en agua. Tiene una masa molecular de 294 g/mol, con punto de fusión de 246 °C (Guerrero y Mora, 2014).

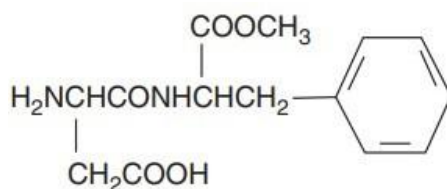


Figura 5. Estructura química de Aspartame (Baduí, 2006)

El edulcorante artificial se descompone en fenilalanina (50 %), ácido aspártico (40 %) y metanol (10 %) durante el metabolismo en el cuerpo (Rycerz y Jaworska-Adamu, 2013). No tiene ningún resabio, resalta e intensifica los sabores principalmente de los cítricos y de frutas, por ser un dipéptido natural es atacado por microorganismos y participa en reacciones de Maillard por lo que se emplea en mezclas con otros edulcorantes, como acesulfame de potasio en una mezcla 50:50 o ciclamato, para mejorar su estabilidad durante el procesado, dando un sabor más equilibrado y disminuye el coste de su producción. Sus aplicaciones en la industria



alimentaria son variadas, entre las que destacan su aplicación en bebidas carbonatadas o no carbonatadas, mermeladas, cereales para desayuno, edulcorantes de mesa, polvos para preparar refrescos, chicles, conservas de frutas, aderezos, untables para el pan, postres congelados, productos lácteos, dulces y confituras (Castro-Carrasco, 2001).

Su estabilidad en disoluciones acuosas es de pH 3-5, en un pH de 3 o menos se produce su hidrólisis. Su empleo como edulcorante se encuentra limitado por su baja solubilidad en agua (60 g/L a 20 °C); su inestabilidad en condiciones neutras y alcalinas, y al someterse a temperatura elevada ya que no resiste temperaturas superiores a 150 °C; su elevado costo y el aporte adicional de fenilalanina libre en personas fenilcetonúricas. Su estabilidad en disolución depende del efecto conjugado de la temperatura del pH y del tiempo de almacenamiento: es buena entre 20-25 °C para pH = 3-5. Valores de pH fuera del rango descrito y sobre todo los pH neutro y alcalino, conjugados con una elevada temperatura provocan una degradación por hidrólisis del aspartamo y una pérdida del poder edulcorante significativa (O'Brien, 2001). Adicionalmente, principalmente a alta temperatura, el aspartamo sufre con facilidad una condensación intramolecular originando la dicetopiperacina. También a pH alcalino se facilitan los procesos de pardeamiento químico por interacción amino (del aspartame) con restos carbonilo (de la glucosa y/o de la vainillina), que originan pérdida del poder edulcorante y del sabor asociado a la vainillina como aromatizante (Navarro, 2006).

Al momento de ser metabolizado, el aspartame se descompone en tres compuestos orgánicos: fenilalanina (50 %), ácido aspártico (40 %) y metanol (10 %). La fenilalanina, generalmente, es metabolizada en el hígado a tirosina mediante la enzima fenilalanina hidroxilasa. En personas que carecen de esta enzima, quienes tienen la enfermedad conocida como fenilcetonuria, no es recomendable el consumo de este edulcorante, debido a que no pueden metabolizar correctamente el aminoácido y su acumulación conlleva un daño neurológico, retraso global y discapacidad intelectual. El exceso de fenilalanina y ácido aspártico afectan el transporte de nutrientes al cerebro, lo que se ve reflejado en una disminución de la dopamina y la serotonina, afectando la función de los astrocitos y provocando hiperexcitabilidad de las neuronas (Stephens-Camacho et al., 2018). Por este motivo, los productos alimenticios con aspartame deben etiquetarse de forma que quede visible su contenido. Las evaluaciones

toxicológicas ejecutadas por el *JECFA* (1981) y el *SCF* (1985) han establecido su inocuidad, fijando una IDA de 40 mg/kg de masa corporal para el aspartame (FAO, 2014).

### 2.5.3. Acesulfame de potasio

El acesulfame de potasio es la sal potásica del 3,4dihidro-6-metil-1,2,3-oxatiazin-4-ona-2,2-dióxido y tiene la fórmula de  $C_4H_4KNO_4S$ . Su estructura presenta cierta similitud con la de la sacarina y tiene también ciertas propiedades ácidas, por lo que su forma comercial es la sal de potasio. Es un polvo blanco cristalino, ligeramente soluble en agua. Su empleo se relaciona con su alta solubilidad en agua (270 g/L a 20 °C); buena estabilidad en solución en el rango habitual de pH de las bebidas (pH= 2-8) o frente a la elevada temperatura de los tratamientos tecnológicos usuales en confitería y pastelería; y con su sabor azucarado agradable. Es 200 veces más dulce que la sacarosa y ofrece un dulzor que se percibe rápidamente pero también decae con facilidad, es sinérgico con otros edulcorantes incluidos polioles y puede enmascarar sabores residuales de estos (Giannuzzi y Molina, 1995)

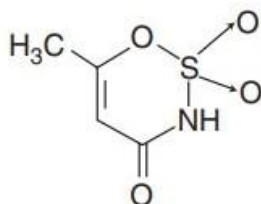


Figura 6. Estructura química del acesulfame de potasio (Baduí, 2006)

El acesulfame de potasio facilita un sabor azucarado limpio de aparición rápida, con un ligero sabor residual amargo a altas concentraciones. Para evitarlo se suele usar en mezclas con otros edulcorantes bajos en calorías, como el aspartamo o los polioles. El acesulfame de potasio se emplea en mezclas por sinergismo y mejora del perfil de sabor dulce obtenido. Dada la buena solubilidad y estabilidad en medio acuoso, el acesulfame de potasio es muy apropiado para endulzar las bebidas sin alcohol, también se usa como edulcorante de mesa y en los productos horneados (Borrego, 2000).

Su síntesis se establece a partir del fluorsulfoilisocianato y el éster butílico del ácido acetoacético. Los productos secundarios que pueden acompañarlo como impurezas son la acetoacetamida y su derivado N-sulfonado (Navarro, 2006).

Los dióxidos de dihidrooxatiazinona básicamente se pueden sintetizar a partir de diferentes materias primas materiales utilizando diferentes rutas de producción. Los materiales de partida adecuados son cetonas,  $\beta$ -dicetonas, derivados de ácidos  $\beta$ -oxocarbonicos y alquinos que pueden reaccionar con isocianatos de sulfonilo-halógeno. Los compuestos formados a partir de tales reacciones se transforman en amida de ácido sulfonil acetoacético de N-halogeno. En presencia de hidróxido de potasio, Este compuesto se cicla al sistema de anillo de dióxido de dihidrooxatiazinona separando las sales de potasio correspondientes. Debido a que los dióxidos de dihidrooxatiazinona son compuestos altamente ácidos, se forman sales del sistema de anillo.

La producción de sal de acesulfame de potasio requiere KOH; sin embargo, NaOH o  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , también se pueden usar. El ácido acetoacetamida-N-sulfónico es otro material de partida adecuado. En la presencia de trióxido de azufre este compuesto se cicla para formar el sistema de anillo de dióxido de dihidrooxatiazinona, que puede reaccionar con KOH para producir acesulfame de potasio. La producción continua de acesulfame de potasio es posible utilizando esta ruta de síntesis. Esto permite la producción a gran escala (O'Brian, 2001).

El acesulfame de potasio es absorbido a nivel intestinal y se excreta por vía urinaria supuestamente sin metabolización previa. Uno de los productos de biotransformación es el ácido acetnamida N-sulfónico y la acetnamida, que finalmente originan acetona, sulfato amónico y dióxido de carbono, los cuales son tóxicos a altas dosis, pero las cantidades a las cuales es empleado no representa riesgos para la salud según unos autores (Shankar *et al.*, 2013).

Según sus fabricantes, los estudios experimentales realizados han demostrado que el acesulfame de potasio no se combina con los ácidos nucleicos, no habiendo manifestado mutagenicidad. Tampoco presenta actividad cancerígena en los estudios a largo plazo

realizados, para dosis del 3 % de la masa de la dieta. La toxicidad oral aguda del acesulfame de potasio es tan baja que puede considerarse como prácticamente no tóxico. El JECFA ha fijado una IDA temporal para el ser humano de 15 mg/kg de masa corporal. En Europa el SCF (2000) estableció una IDA de 9 mg/kg de masa corporal.

#### 2.5.4. Sucralosa

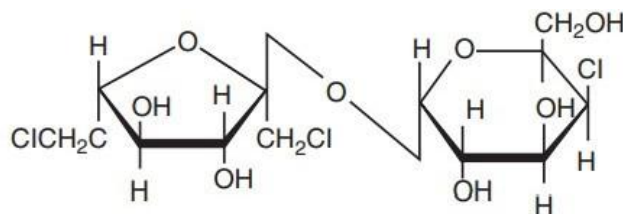


Figura 7. Estructura química de la sucralosa (Baduí, 2006)

La sucralosa es un derivado sintético de la sacarosa descubierto por Hough de Tate y Lyle en 1979. La sucralosa es el 1,6-dicloro-1,6-dideoxib-fructofuranosil-4-cloro- $\alpha$ -D-galactopiranosido con una fórmula de  $C_{13}H_{18}Cl_3O_8$ . Es un polvo blanco cristalino, no higroscópico. La sucralosa es 450–650 veces más dulce que la sacarosa, tiene un sabor dulce agradable y su perfil de intensidad de tiempo y calidad es muy cercano al de la sacarosa, con una alta solubilidad en agua (260 g/L a 20 °C) y es estable en un amplio rango de pH (3-7) y temperatura (Chattopadhyay et al., 2014).

Su síntesis se establece por cloración selectiva de 3 hidroxilos de la sacarosa la cual implica una serie de etapas de protección y desprotección selectivas para que el grupo 4-hidroxilo pueda convertirse en un átomo de cloro con inversión de configuración. El tratamiento de los grupos hidroxilo libres con cloruro de sulfurilo produce triclorodiglúcido que luego se desprotege para dar la sucralosa (Ager et al., 1998).

También es estable frente a alta temperatura, como la de cocción y horneado. Tiene las ventajas de ser acalórico; excelente estabilidad en almacenamiento, tratamientos térmicos intensos ya que los tres cloros presentes en la estructura de la sucralosa le confieren

estabilidad al calor, por lo que los alimentos a los que es añadido este edulcorante, se pueden cocinar o hornear sin perder las características sensoriales que otorga dicho edulcorante.

A pH ácido o en bebidas carbonatadas es muy estable, ya que se hidroliza lentamente a monosacárido y no tiene resabio amargo a diferencia de otros edulcorantes hipocalóricos. La sucralosa se usa en productos de panadería, pastelería y bizcochería, bebidas no alcohólicas carbonatadas y no carbonatadas, productos lácteos, alimentos congelados, gomas de mascar, jarabes, frutas exprimidas, edulcorantes de mesa, postres congelados y aderezos para ensalada (Borrego, 2000).

La mayor parte de la sucralosa ingerida, según sus fabricantes, no abandona el tracto gastrointestinal y se excreta directamente en las heces. El 85 % de la sucralosa ingerida se elimina por las heces, y el 15 %, que se absorbe de manera pasiva, no puede ser metabolizada con fines energéticos por las células. Por ser altamente soluble en agua y no ligarse a las proteínas plasmáticas puede ser eliminada por vía renal sin presentar decloración en las 24 horas siguientes a su consumo, sin efecto osmótico (Calzada-León et al., 2013). El efecto más leve de la sucralosa es como desencadenante de migrañas. Existen casos clínicos en los que el consumo de sucralosa ha provocado episodios agudos de migraña en consumidores después de haber ingerido bebidas endulzadas o en alimentos preparados con el edulcorante (Patel et al., 2006).

## **2.6. Métodos para la determinación de edulcorantes**

Los métodos cromatográficos son las técnicas analíticas más potentes para el análisis del tipo y concentración de edulcorantes en los alimentos. La cromatografía de capa fina, la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR) se usan comúnmente para separar e identificar a los edulcorantes debido a que se separan en función de sus características de adsorción diferencial al pasar la solución a analizar a través de una

columna. Pueden separarse en función de sus coeficientes de partición, polaridades o tamaños, según el tipo de columna utilizada. CLAR es actualmente el método cromatográfico más importante para analizar estas sustancias porque es capaz de realizar mediciones rápidas, específicas, sensibles y precisas. Además, cromatografía de gases requiere que las muestras sean volátiles, lo que generalmente requiere que sean derivatizadas, mientras que en las muestras de CLAR a menudo se pueden analizar directamente. La cromatografía también se usa comúnmente junto con espectrometría de masas para que se pueda identificar la estructura química de las moléculas que forman los picos.

## **2.7. Cromatografía de líquidos de alta resolución**

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) es una técnica analítica que permite la separación de los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica, su poder para distinguir una sustancia de otra va a depender de la naturaleza del detector.

Es ampliamente utilizada en la industria química por su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas y su amplia aplicabilidad a sustancias.

Para esta técnica es necesario que la muestra sea soluble en un disolvente, ya que la fase móvil es líquida, la cual pasa a través de la columna donde se lleva a cabo la separación cromatográfica debido a las interacciones específicas entre las moléculas de las muestras con ambas fases, móvil y estacionaria, tales interacciones pueden ser:

- Absorción líquido- sólido o cromatografía de fases normales
- Reparto líquido-líquido o partición
- Intercambio de iones
- Exclusión por tamaño

Una cromatografía exitosa con fases móviles interactivas requiere un equilibrio adecuado entre las fuerzas intermoleculares existentes entre los tres participantes activos en el proceso

de separación, a saber, el soluto, la fase móvil y la fase estacionaria. Estas fuerzas intermoleculares se describen cualitativamente en términos de polaridad relativa de cada uno de los tres reactivos. El tipo de cromatografía de líquidos de alta resolución más ampliamente utilizado es la cromatografía de reparto, en la cual la fase estacionaria es un segundo líquido que es inmiscible con la fase líquida móvil (Skoog *et al.*, 2008).

Con base en las polaridades relativas de las fases móvil y estacionaria, se distinguen dos tipos de cromatografía de reparto:

- En la cromatografía en fase normal, el componente menos polar se eluye primero; al aumentar la polaridad de la fase móvil ocasiona una disminución del tiempo de elución. En cambio, con la cromatografía de fase inversa, los componentes más polares aparecen primero y un aumento de la polaridad de la fase móvil incrementa el tiempo de elución. Para llevar a cabo esta separación se usa una fase estacionaria polar, generalmente sílice, y una fase móvil no polar (hexano, tetracloruro de carbono, benceno, etc) lo que favorece la retención de compuestos polares y la elución de compuestos no polares.
- En la cromatografía en fase reversa la elución se lleva a cabo con una fase móvil de elevada polaridad, por ejemplo, una solución acuosa que contiene concentraciones diversas de solventes como metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano. En esta se utiliza una fase estacionaria no polar, generalmente sílice enlazada con cadenas de grupos orgánicos de 8 o 18 átomos de carbono y una fase móvil polar (agua, soluciones amortiguadoras de pH, acetonitrilo, metanol) de esta forma los compuestos no polares serán retenidos y los compuestos polares eluidos, este mecanismo depende de interacciones hidrofóbicas entre las moléculas del soluto en la fase móvil y el ligando hidrofóbico inmovilizando la fase estacionaria (Díaz-Campos, 2014).

## **2.8. Instrumentación de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución**

Un equipo de CLAR básicamente debe contar con un sistema de bombeo que impulse el flujo de la fase móvil a través de la columna, una columna que separe los componentes de la

muestra la cual será introducida mediante un inyector un detector que mida alguna característica de dichos componentes conforme va saliendo de la columna y un procesador que convierta la señal electrónica del detector en un cromatograma.

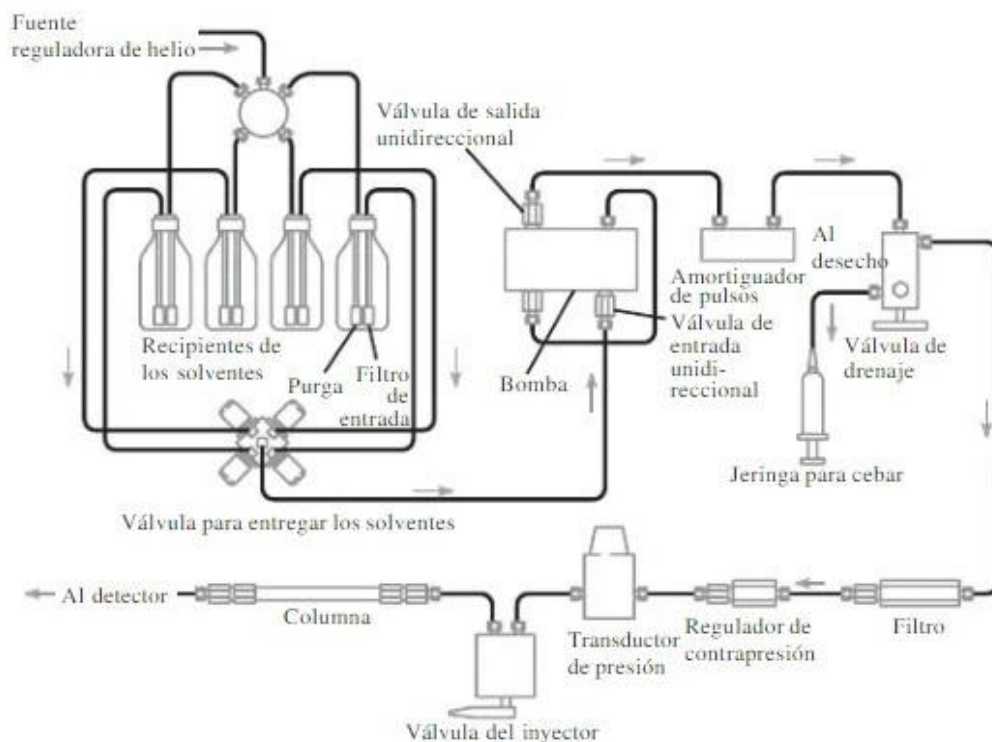


Figura 8. Diagrama de bloques que muestra los componentes de un aparato característico de CLAR por Perkin-Elmer (Skoog *et al.*, 2008).

### 2.8.1. Fase móvil

Una fase móvil apropiada para CLAR debe cumplir con algunos requisitos, por ejemplo: solubilizar bien las muestras, no degradar o disolver la fase estacionaria, poseer baja reactividad, ser compatible con el detector utilizado, poseer baja viscosidad, ser seguro y tener alto grado de pureza. Los disolventes más empleados en CLAR son agua, soluciones tampón acuosas y disolventes orgánicos como el metanol y el acetonitrilo.

Un cromatógrafo de líquidos está equipado con uno o más recipientes de vidrio, cada uno de los cuales contiene 500 mL o más de la fase móvil. Es importante que a la fase móvil se



desgasifique y se filtre para eliminar las partículas sólidas que están en suspensión para evitar que dañen la bomba o los sistemas de inyección u obstruyan la columna.

Con frecuencia, los sistemas también contienen un dispositivo para eliminar dichas interferencias, aunque no es necesario que los desgasificadores y los filtros sean partes de los sistemas de CLAR, una forma conveniente de tratar los solventes antes de introducirlos en el recipiente, consiste en hacerlos pasar al vacío a través de un filtro millipore y desgasificarlos mediante un baño sonificador (Skoog et al., 2008).

La fase móvil puede variar su composición durante la corrida por lo cual una elución que utiliza un solo solvente o una mezcla de solventes de composición constante la cual no varía con el tiempo, se denomina elución isocrática. Mientras que en la elución con gradiente se usan dos sistemas de solventes y algunas veces más, que difieren de manera notable en cuanto a polaridad y varían en composición durante la separación. La relación entre los dos solventes se hace el poder de elución, lo cual provoca una variación en la composición de la fase móvil durante el análisis de la muestra (Moreno, 2016).

### **2.8.2. Sistema de bombeo**

Entre los requisitos para las bombas en cromatografía de líquidos está:

- 1) El sistema debe estar hecho de materiales químicamente resistentes a la fase móvil
- 2) Generación de presiones de hasta 41400 kPa o 414 bares (6000 psi o  $\text{lb}_f/\text{in}^2$ )
- 3) El flujo debe ser libre de pulsaciones
- 4) Tasas de flujo de 0.1 a 10mL/ min
- 5) Reproducibilidad del flujo de 0.5 % relativo o mejor
- 6) Componentes resistentes a la corrosión a causa de la diversidad de solventes

Existen tres tipos de bombas: bombas reciprocantes, bombas de jeringa y bombas de presión constante o neumática.

Las bombas reciprocantes son las más usadas, el 90 % de los equipos de CLAR cuentan con este sistema de bombeo. El disolvente es expulsado de una cámara por el movimiento de

vaivén de un pistón accionado por un motor. Estas bombas utilizan cámaras de pequeño volumen (35-400  $\mu\text{L}$ ) con pistones alternativos o diafragmas flexibles para conducir el flujo de disolvente contrapresión de la columna. Esta bomba impulsa a la fase móvil, por el movimiento de vaivén de un pistón accionado por un motor, en ciclos alternados de llenado y vaciado de la cámara de bombeo. En uno de los ciclos el pistón entrega el solvente contenido en la cámara y en el ciclo complementario cierra su comunicación con la columna y toma solvente del reservorio (Volonté y Quiroga, 2013).

### **2.8.3. Inyector**

Son válvulas que orientan el caudal hacia la columna, pasando o no, según su posición, a través de un “*loop*” en el cual se introduce la solución a inyectar. Las válvulas pueden accionarse manual o automáticamente. Poseen un cuerpo fijo, un rotor con un sello que gira y un “*loop*” externo, intercambiable, con volúmenes entre 5-500  $\mu\text{L}$  o hasta volúmenes entre 0.5-5  $\mu\text{L}$ , que contiene la muestra (Volonté y Quiroga, 2013).

### **2.8.4. Columna**

La separación de los componentes de la muestra se produce en la columna. La mayoría de las columnas para CLAR se construyen con tubos de acero inoxidable de diámetro interno uniforme. Esta clase de tubos miden entre 10 y 30 cm. El diámetro interno de las columnas es a menudo de 4 a 10 mm y los tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son 3, 5 y 10  $\mu\text{m}$ . Para aumentar la vida de la columna analítica se coloca delante una precolumna que elimina la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes. El relleno consiste en bolas de vidrio o de polímero, no porosas y esféricas con unos diámetros característicos de 30 a 40  $\mu\text{m}$ . En la superficie de estas bolas se deposita una capa delgada de sílice. Los rellenos de partículas porosas para CLAR están formados por micro partículas porosas con diámetros entre 3 y 10  $\mu\text{m}$  y con la menor dispersión posible para un tamaño determinado. La sílice es el material más comúnmente empleado para este tipo de columnas debido a que se pueden producir partículas con diámetros muy uniformes (Cruz-Mojica, 2019).

### **2.8.5. Detector**

El detector ideal será aquel que satisfaga los siguientes requisitos: alta sensibilidad, estabilidad, lectura continua y respuesta universal. El detector debe poseer un dispositivo que mida en forma continua alguna propiedad fisicoquímica de los componentes de la muestra o de la solución que los contiene y que genere una señal proporcional a la concentración de la muestra, a medida que esta sale de la columna (Volonté y Quiroga, 2013).

Los detectores en cromatografía de líquidos de alta resolución son de dos tipos básicos. Los detectores basados en una propiedad física general de la fase móvil que responden a cambios en el índice de refracción, la constante dieléctrica o la densidad, las cuales se modifican por la presencia de los analitos. Por contraste, los detectores basados en una propiedad del soluto responden a alguna de las propiedades de la muestra como es la absorción en UV, fluorescencia, actividad óptica, etc. (Snyder y Kirkland, 1979). El detector de índice de refracción, como su nombre lo indica mide la diferencia de índice de refracción entre el solvente puro y el solvente que contiene la muestra. Es decir, es un detector basado en una propiedad de la disolución, pues responde a una propiedad de la fase móvil que se modifica por la presencia de un analito. Es un detector universal, ya que es imposible que el índice de refracción del soluto sea similar al del solvente y además no es destructivo. Sin embargo, es muy poco sensible, lo cual limita su campo de aplicación y es muy afectado por los cambios de temperatura. No puede utilizarse con gradiente de fase móvil porque el cambio de composición de la misma se acompaña con un cambio de su índice de refracción y entonces no puede estabilizarse la línea base. Este tipo de detector es muy utilizado para determinar carbohidratos.

Por otro lado, el detector UV es el detector más utilizado en CLAR. En este caso, es un detector basado en una propiedad del soluto, como es la de absorber al UV, que no es propia de la fase móvil.

Es muy sensible y posee un buen rango lineal, permite detectar analitos en el orden de los nanogramos. Es confiable y fácil de operar. No es destructivo y puede emplearse con gradientes de fase móvil. Es un detector muy poco sensible a los cambios de flujo y de temperatura (Snyder y Kirkland, 1979).

### **2.8.6. Sistema de registro de datos**

Una vez que la respuesta de la muestra del detector da una señal eléctrica; esta señal es enviada al registrador que a su vez da un cromatograma de intensidad en función del tiempo. El integrador calcula el área de cada pico la cual se puede relacionar con la concentración del componente analizado.

# CAPÍTULO III

## METODOLOGÍA

A continuación, se expondrán los materiales y reactivos empleados en la realización de esta tesis.

### 3.1. Material de laboratorio

Espátula de 21 cm, sin marca

Matraces aforados Erlenmeyer de 1000, 100, 50 y 25 mL marca Pyrex

Probeta de 100 y 10 mL marca Pyrex

Vasos de precipitados de 250 y 50 mL marca Pyrex

Micropipeta de 10 mL marca Brand

Puntas de 1 a 10 mL para micropipeta marca Brand

Viales de 10 y 25 mL sin marca

Equipo de filtración rápida marca Sartorius

Membrana millipore de 47 mm, con tamaño de poro de 22  $\mu\text{m}$

Frascos contenedores de fase móvil de 500 y 250 mL marca Schott Duran

### 3.2. Muestras

La Tabla 1 muestra las características de las muestras.

Tabla 1. Características de las muestras

Nombre de la muestra	Contenido reportado en la etiqueta
Sacarosa	Contenido: 500 g Lote: 0707037 Fórmula: $C_{12}H_{22}O_{11}$  M.M. 342.30 g/mol Marca: Golden Bell reactivos

Nombre de la muestra	Contenido reportado en la etiqueta
Fructosa	Contenido: 100 g Lote: 57917 Fórmula: $C_6H_{12}O_6$  M.M. 180.16 g/mol Pureza: 98.0-120.0 % Marca: Hycel de Mexico, SA de C.V.
Glucosa	Contenido: 100 g Lote: #SLBV7620 Fórmula: $C_6H_{12}O_6$  M.M. 180.16 g/mol Pureza: $\geq 99.5$ % Marca: Sigma Aldrich
Aspartame	Contenido: 1 g Lote: 063K3443 Marca: Sigma Aldrich
Sucralosa	Contenido: 100 g Lote: BCBT2112 Fórmula: $C_{12}H_{18}Cl_2O_5$  M.M. 397.63 g/mol Pureza: $\geq 98.0$ % Marca: Sigma Aldrich
Acesulfame de potasio	Contenido: 100 g Lote: BCBX0318 Fórmula: $C_4H_4KNO_3S$  M.M. 201.24 g/mol Pureza: $\geq 99.0$ % Marca: Sigma Aldrich
Sacarina	Contenido: 250 g Lote: 3MKCD2865 Fórmula: $C_{12}N_2NO_5S$  M.M. 183.18 g/mol Pureza: $\geq 98$ % Marca: Sigma Aldrich
Mezcla de acesulfame de potasio y aspartame	Contenido: 1 g Marca: Canderel®

### **3.3 Reactivos**

Ácido nítrico (reactivo analítico, 65.6 %, JT Baker), ácido fosfórico (reactivo analítico, 84.1 %, JT Baker), hidróxido de sodio (reactivo analítico, 98.4 %, JT Baker), ácido clorhídrico (reactivo analítico, 37.6 %, JT Baker), metanol (reactivo HPLC, JT Baker).

### **3.4. Equipo**

Balanza analítica. Marca Ohaus, modelo AP210, serie 223002

Potenciómetro advanced ISE/pH/mv/ORP, marca Thermo Electron Corporation

Estufa BitHf-02

Baño ultrasónico, marca Cole-Parmer

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR) con una bomba Perkin Elmer, modelo 250, interfase PE Nelson, columna Kinetex 2.6  $\mu\text{m}$  XB-C18 150 x 4.6 mm, detector UV Perkin Elmer empleando el software Acer-Power 5200

### **3.5. Preparación de la fase móvil**

Se establecieron las condiciones cromatográficas de acuerdo con lo establecido por Lawrence y Charbonneau (1988). En este texto se indica que, como primer punto, se debe preparar la fase móvil de 2 soluciones, la A y la B. Para la preparación de la solución A se pesaron 1.36 g de fosfato de potasio monobásico aforando a 500 mL con agua desionizada. A esta solución se le adicionaron 15 mL de acetonitrilo. A la disolución resultante se le ajustó el pH= 5 con 2 mL de una solución de NaOH 0.01 M. Posteriormente, se prosiguió con la preparación de la solución B, pesando 1.36 g de fosfato de potasio monobásico aforando a 500 mL con agua desionizada. A esta solución se le adicionaron 100 mL de acetonitrilo. A la disolución resultante se le ajustó el pH=3 con 10 mL de una solución de ácido fosfórico al 5 %. Ambas soluciones fueron filtradas en un equipo de filtración rápida con una membrana millipore de 47 mm, con tamaño de poro de 22  $\mu\text{m}$ .

### **3.6. Realización de las curvas de calibración**

Para la realización de las curvas de calibración, se prepararon 7 soluciones madre en matraces de 100 mL de los compuestos a analizar y de cada disolución se hicieron 10 concentraciones diferentes, las cuales se inyectaron por triplicado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución.

Una vez construidas las curvas de calibración se determinó la precisión del sistema mediante la medida del área de los picos respecto con las 5 inyecciones realizadas a la concentración correspondiente a la mitad de la curva de calibración.

### **3.7. Análisis de edulcorantes calóricos e hipocalóricos y pruebas estadísticas**

Se tomaron al azar muestras de las bebidas suministradas de edulcorantes calóricos (glucosa, sacarosa y fructosa) e hipocalóricos (sacarina, acesulfame de K, sucralosa y aspartame) a los especímenes con el objetivo de verificar la cantidad de edulcorante que realmente han estado ingiriendo, considerando que estas evaluaciones al azar permitirán extrapolar la información para los 14 meses de experimentación, dado que la preparación de las disoluciones acuosas de los edulcorantes sigue un protocolo de preparación que no ha cambiado en este lapso.

Para obtener la concentración real de las bebidas suministradas a las ratas, se inyectaron por triplicado las muestras de bebida correspondientes a cada edulcorante y este dato se interpoló en la ecuación de la respectiva curva de calibración. Se empleó un modelo estadístico utilizando la t de Student, para poder concluir la presencia o ausencia de alguna diferencia significativa a un valor de p o  $\alpha \geq 0.05$  entre la concentración reportada en la elaboración de las bebidas que les fueron suministradas a los especímenes bajo estudio y la concentración obtenida al cuantificar dichas bebidas.



# CAPÍTULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Condiciones cromatográficas óptimas

En la Tabla 2 se presentan los gradientes de elución que resultaron ser los más adecuados para cuantificar los edulcorantes bajo estudio. En ella se aprecian los tiempos de retención y la absorbancia obtenida para una adecuada separación y definición de los picos cromatográficos al momento de inyectar la solución estándar individual de los 7 edulcorantes de estudio.

**Tabla 2. Condiciones cromatográficas y tiempo de retención de los edulcorantes analizados**

Edulcorante	Solución A %	Solución B %	Tiempo de retención (min)	Absorbancia (nm)
Acesulfame de K	100	0	4.2	254
Aspartame	20	80	9.7	220
Fructosa	70	30	1.7	200
Sacarosa	45	55	2.0	200
Glucosa*	Acetonitrilo/agua 80:20		8.3	-

\*Para la cuantificación de glucosa fue necesario el cambio de detector de UV al de índice de refracción

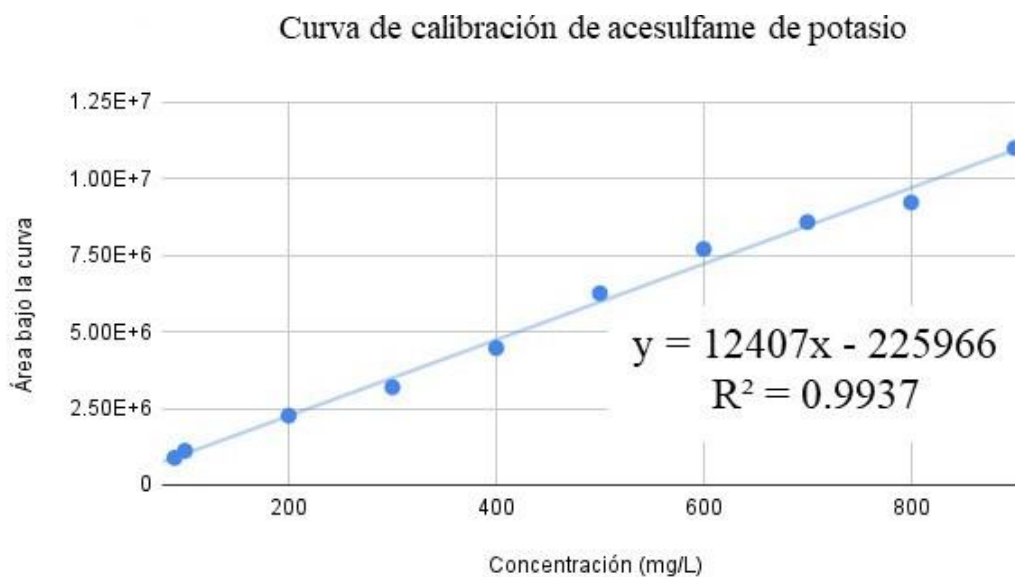
Los tiempos de retención de todos los edulcorantes calóricos e hipocalóricos analizados fueron similares a los reportados previamente en la literatura (Ortega-Gutiérrez, 2010), donde se reportó un tiempo de retención de 6.5 min para el edulcorante acesulfame de K, de 10.4 min para el aspartame, de 3.7 min para la fructosa y de 2.3 min para la sacarosa. En el caso de la glucosa, se obtuvo un tiempo de retención de 8.3 min; sin embargo, en la literatura se reportó un tiempo de retención para este compuesto de 8.5 min (Foitzich, 2013). Cabe recalcar que el tiempo de retención que presenta un compuesto, puede variar debido a la preparación de la fase móvil, a un cambio en el pH de la fase móvil, o un aumento o disminución del flujo de la misma (Quattrocchi et al., 1992). Los tiempos de retención y la separación analítica son afectados por cambios en la fase móvil y estacionaria, por lo que la retención puede disminuir añadiendo mayor cantidad de disolvente orgánico a la fase móvil (Sacristán et al., 2011).

Para el edulcorante glucosa, se optó por utilizar distintas condiciones cromatográficas, ya que la mayoría de los hidratos de carbono absorben en el intervalo de UV cercano, de 180-220 nm. Sin embargo, a esta longitud de onda existe generalmente interferencia de otros componentes de la muestra (especialmente impurezas). Para estos casos, el detector de índice de refracción es el que comúnmente se utiliza para el análisis de carbohidratos en alimentos, el cual mide la diferencia entre el índice de refracción de un solvente puro y de un solvente que contiene la muestra que, en este caso, fue acetonitrilo. Es considerado un detector universal, ya que es altamente improbable que el índice de refracción del soluto sea similar al del solvente. En este estudio, se utilizó una columna Zorbax NH<sub>2</sub> de 4.6 x 250 mm, la cual es una columna de intercambio iónico diseñada para la separación de carbohidratos, tales como la glucosa. Como fase móvil se utilizó una solución de acetonitrilo y agua destilada grado cromatográfico en una proporción de 80:20. Debido a que en la determinación se acopló a un detector de índice de refracción, no es posible realizar una elución en gradientes, por lo que las preparaciones de la fase móvil se diseñaron en la utilización de sistema de elución de manera isocrática (Ureña et al., 2007).

## **4.2. Realización de las curvas de calibración**

Como se mencionó en el apartado de metodología, las curvas de calibración de los edulcorantes en estudio se construyeron inyectándose el estándar a 10 diferentes concentraciones y esto se realizó por triplicado para cada curva. Al realizar la integración de las señales cromatográficas, se obtuvo el área bajo la curva, la cual es dependiente de la concentración del estándar. Con esta información, se construyó la curva de calibración de cada edulcorante y, a través de ella, se determinó la ecuación de la recta, con la cual se obtuvo el coeficiente de correlación, el cual sirvió para examinar la relación lineal entre dos variables continuas. La ecuación de la recta se determinó mediante la ecuación  $y=mx+b$ , En esta ecuación, x y y son coordenadas de un punto, m es la pendiente y b es la coordenada y de la intersección en y. En la Tabla 3 se aprecia que el coeficiente de correlación se aproxima al valor numérico de 1, por lo que los resultados obtenidos para cada gráfica (Figuras 9 a la 13) presentaron una tendencia lineal entre el área bajo la curva y la concentración del analito. Los

resultados del área bajo la curva correspondientes a cada inyección de las curvas de calibración son detallados en el Anexo 1.



**Figura 9. Curva de calibración de acesulfame de potasio**

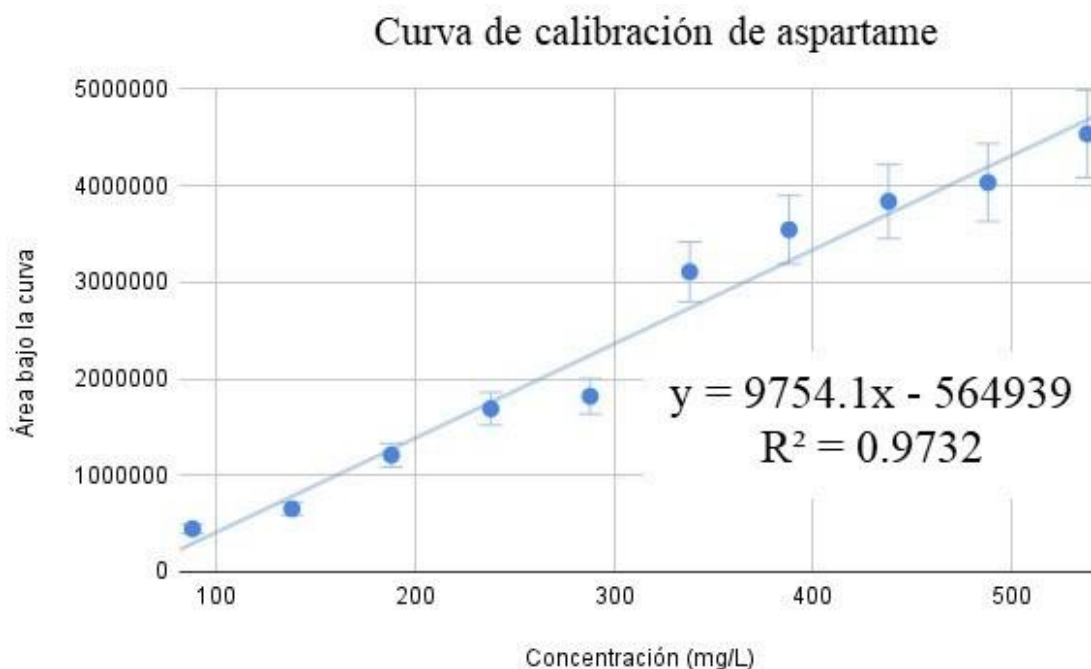
**Tabla 3. Pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación de las diferentes curvas de calibración**

<b>Tipo de edulcorante</b>	<b>m</b>	<b>b</b>	<b><math>R^2</math></b>
Acesulfame de potasio	12407	-225966	0.9937
Aspartame	9754	-564939	0.9732
Fructosa	0.046	77.96	0.9801
Sacarosa	383	5676	0.9815
Glucosa	3.26	-16586	0.9898

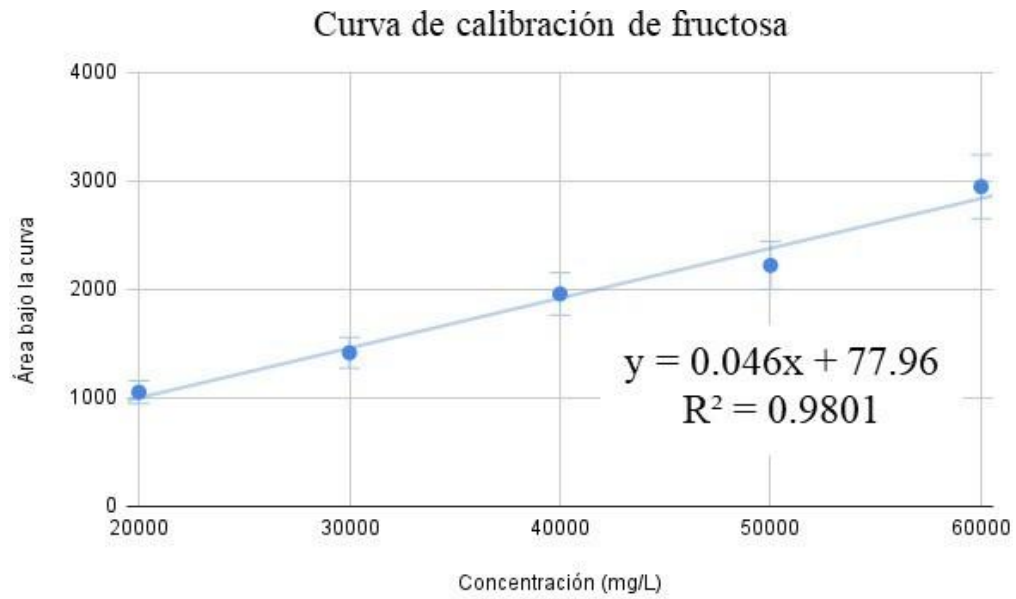
Donde: m= Pendiente, b=ordenada al origen,  $R^2$ = Coeficiente de correlación de la recta

### 4.3. Precisión del método

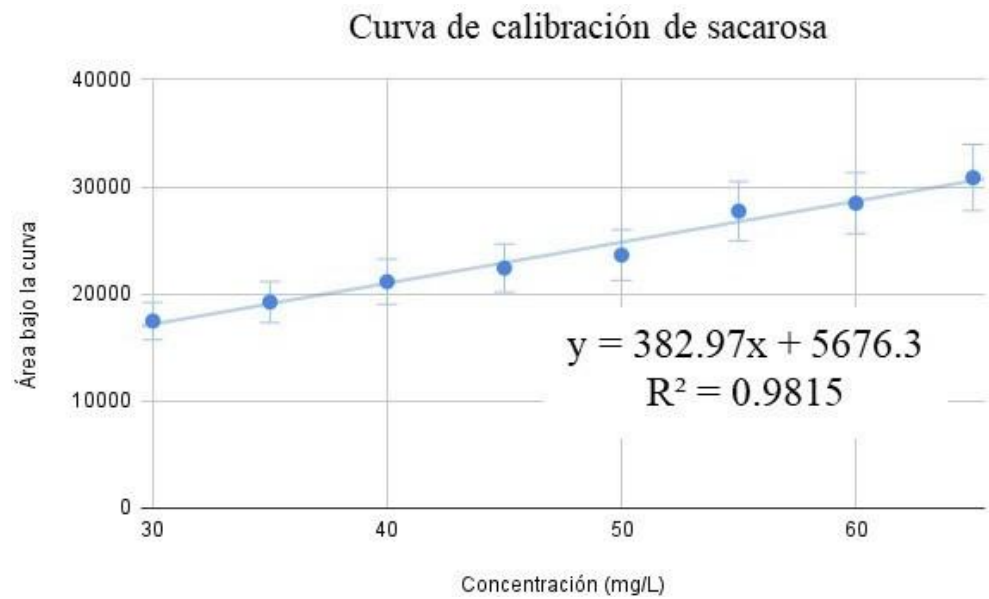
Según Quattrocchi et al. (1992), una vez desarrollado un método de análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR, al igual que toda técnica analítica, deberá validarse. Para ello, se tiene que confirmar y documentar que los resultados son confiables. En esta investigación se evaluó la precisión del método, la cual se encuentra relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio.



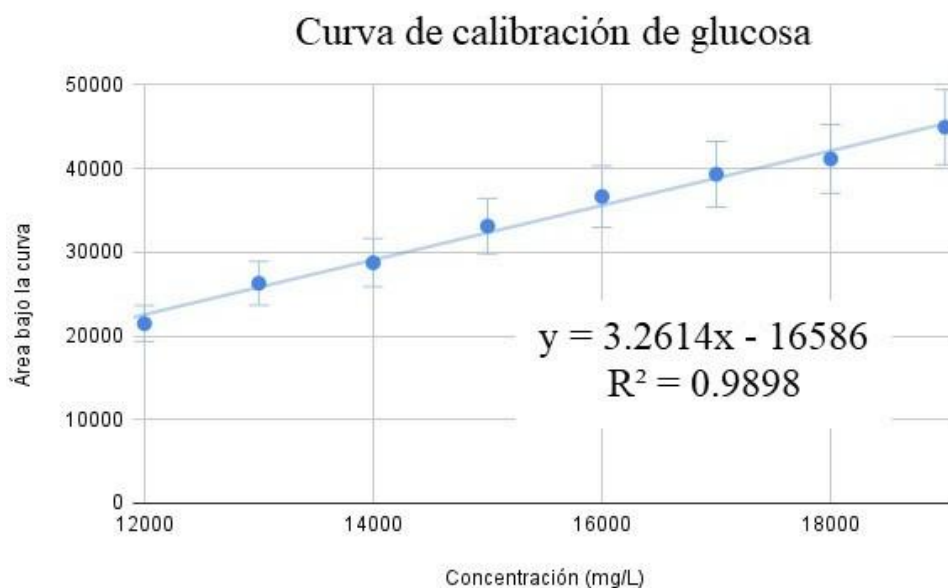
**Figura 10. Curva de calibración de aspartame**



**Figura 11. Curva de calibración de fructosa**



**Figura 12. Curva de calibración de sacarosa**



**Figura 13. Curva de calibración de glucosa**

Estas mediciones alrededor de su valor medio corresponden al grado de concordancia entre muestras de ensayos individuales, cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea. La precisión es expresada matemáticamente como la desviación estándar o coeficiente de variación, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4. Resultados de la precisión obtenida para cada edulcorante**

<b>Edulcorante</b>	<b>Promedio de 5 inyecciones</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
Acesulfame de K	6257802.40	58164.88	0.92
Aspartame	1818699.75	6592.23	0.36
Fructosa	1050.60	7.92	0.75
Sacarosa	22409.75	292.71	1.30
Glucosa	28748.60	235.04	0.81

Con los datos obtenidos se pudo observar que la precisión del equipo de cromatografía resultó adecuada, ya que el método demostró ser preciso, exacto y específico y, por lo tanto, fue un buen método para la determinación y cuantificación de estos edulcorantes, ya que se obtuvieron coeficientes de variación menores al 5 % (Castillo, 1996).

#### 4.4. Análisis de las bebidas suministradas a las ratas en su dieta

En el Anexo 2 se encuentran los datos recolectados al inyectar por triplicado las muestras de edulcorantes calóricos (glucosa, sacarosa, fructosa) e hipocalóricos (aspartame y acesulfame de potasio) los cuales se utilizaron para las preparaciones diarias de las bebidas que fueron administradas a las ratas de la estirpe Wistar, y que consumieron una dieta balanceada.

Para conocer la concentración real de las bebidas suministradas a las ratas, el área bajo la curva se interpoló con la ecuación de la recta obtenida de las curvas de calibración, la determinación y cuantificación de estos edulcorantes, permitió hacer comparaciones entre los promedios obtenidos en las muestras analizadas. En la Tabla 5 se presenta un ejemplo de los resultados obtenidos del análisis realizado al azar de las botellas donde se depositan las soluciones preparadas de los edulcorantes para los modelos animales.

**Tabla 5. Resultados del análisis de bebidas administradas a ratas**

<b>Edulcorante</b>	<b>Fecha de muestreo</b>	<b>Área bajo la curva promedio</b>	<b>Concentración ppm (mg/L)</b>	<b>CV</b>
Acesulfame K	25/210/019	5965872.33	499.06	0.3766
Aspartame	9/10/2019	1992704.00	262.214	0.1644
Fructosa	8/11/2019	2029.00	74148.67	2.7711
Sacarosa	20/11/2019	22427.33	97193.695	3.4770
Glucosa	29/01/2020	29316.66	140805.72	1.0940

Donde: CV= Coeficiente de variación

Puede verse que el coeficiente de variación, CV, de los edulcorantes analizados (muestras) fueron menores al 5 % por lo que la distribución entre las áreas bajo la curva no presentó dispersión entre sí.

#### 4.5. Análisis estadístico de los datos

Es posible observar en las Tablas 6 y 7 que hubieron pequeñas discrepancias entre las concentraciones iniciales en las bebidas y las obtenidas en el muestreo, por lo cual, para corroborar la existencia de diferencias significativas entre los datos obtenidos, se realizó un análisis estadístico mediante el uso de la prueba t de Student, la cual estima la media de una población normal distribuida cuando el tamaño de la muestra es pequeño.

**Tabla 6. Comparación entre las concentraciones obtenidas**

<b>Edulcorante</b>	<b>Concentración teórica (mg/L) Bebidas</b>	<b>Concentración de la muestra tomada* (mg/L)</b>
Acesulfame K	500.00 $\pm$ 0.05	499.06 $\pm$ 1.87
Aspartame	278.00 $\pm$ 0.04	262.21 $\pm$ 0.43
Fructosa	70,000.00 $\pm$ 0.05	74,148.67 $\pm$ 2054.7
Sacarosa	100,000.00 $\pm$ 0.03	97,193.70 $\pm$ 3379.5
Glucosa	140,000.00 $\pm$ 0.04	140,805.72 $\pm$ 1540.5

\*n=5

El análisis arrojó que para los edulcorantes aspartame y fructosa el valor calculado de la prueba t de Student, fue ligeramente mayor en comparación con el valor de t reportado en Tablas. Por tanto, la hipótesis nula fue rechazada y las concentraciones obtenidas por esta metodología difirieron de las concentraciones teóricamente suministradas en las bebidas a las ratas para dos de los edulcorantes en estudio. Aunque si bien hubieron diferencias significativas, hay que señalar que el número de muestras tomadas fue demasiado bajo (n=5 de 480 muestras por día por cada edulcorante). El cambio entre los valores teóricos y los encontrados fue relativamente pequeño ya que, por ejemplo, para la fructosa el cambio de 7 a



7.4 mg/L representó solamente un 5.7 % de diferencia entre las concentraciones, lo que habrá que corroborar con en el resto de las muestras acumuladas.

**Tabla 7. Resultados de la prueba t de Student**

Edulcorante	Concentración promedio (X)	DE	Hipótesis	$\alpha$	g.l.	$t_0$	t(0.05)
Acesulfame K	499.06	1.87	H <sub>0</sub> : $\mu = 500$ H <sub>1</sub> : $\mu \neq 500$	0.05	2	-0.8706	2.92
Aspartame	262.21	0.43	H <sub>0</sub> : $\mu = 288$ H <sub>1</sub> : $\mu \neq 288$	0.05	2	-103.61	2.92
Fructosa	74148.67	2054.75	H <sub>0</sub> : $\mu = 70000$ H <sub>1</sub> : $\mu \neq 70000$	0.05	2	3.4971	2.92
Sacarosa	97193.695	3379.52	H <sub>0</sub> : $\mu = 100000$ H <sub>1</sub> : $\mu \neq 100000$	0.05	2	-1.4382	2.92
Glucosa	140805.72	1540.51	H <sub>0</sub> : $\mu = 140000$ H <sub>1</sub> : $\mu \neq 140000$	0.05	2	0.9058	2.92

Donde: (X)=promedio de las concentraciones (mg/L), DE=desviación estándar de la concentración (mg/L), H<sub>0</sub>=Hipótesis nula, H<sub>1</sub>= Hipótesis alternativa,  $\alpha$ =nivel de significancia, g.l.=grados de libertad,  $t_0$  =valor t calculado, t (0.05) =valor t de tablas

De manera semejante, pudo ocurrir con el aspartame, ya que debido a que se trataba de mezcla comercial que venía en sobres, la variación pudo deberse a los cambios entre los diferentes lotes del producto, ya que, al terminarse un lote, se empleaba otro. Otras posibles causas pudieron ser que como las muestras fueron tomadas en días diferentes y aunque las bebidas se preparaban diariamente, pudo haber un error de paralaje en los aforos por parte del analista e incluso de esta parte de la investigación. Cabe recalcar que, en el caso del aspartame, se utilizó un producto comercial (Canderel ®), en el cual probablemente existan pequeñas diferencias entre los lotes lo cual podría contribuir a la diferencia entre la concentración teórica y la experimental. Así mismo con los demás edulcorantes, aunque en menor medida, ya que cada vez que se acababa el edulcorante se empleaba reactivo que ya provenía de un nuevo lote. Esta fue la razón de seleccionar este ejemplo, ya que con el resto de las muestras la hipótesis fue aceptada indicando que la concentración que se deseaba dar a los animales modelo de laboratorio fue semejante a los valores teóricos usados para su preparación. Para los edulcorantes acesulfame de potasio, glucosa y sacarosa, el valor fue menor en comparación con el valor de t reportado en las tablas, por lo que la hipótesis nula fue aceptada, no habiendo

existencia estadísticamente significativa entre las concentraciones obtenidas por esta metodología en comparación con las concentraciones de las bebidas suministradas a las ratas en la experimentación.

# CAPÍTULO V

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo general de la investigación, el cual fue el de “Identificar y cuantificar el contenido de edulcorantes naturales y artificiales mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) de muestras de agua potable endulzada suministradas durante 14 meses a ratas hembra y macho de la estirpe Wistar como sistema de control de calidad”, pueden señalarse las siguientes conclusiones:

- La metodología implementada en este estudio demostró ser una técnica rápida y eficiente en la determinación de edulcorantes
- El método establecido demostró ser preciso, exacto y específico, cumpliendo con los criterios establecidos para la validación de los métodos analíticos
- El diseño experimental planteado, así como las condiciones cromatográficas permitió detectar y cuantificar los edulcorantes calóricos (glucosa, sacarosa, fructosa) e hipocalóricos (aspartame, acesulfame de potasio) mediante cromatografía de líquidos de alta resolución
- De acuerdo con la t de Student, a un nivel de significancia de 0.05, para aspartame y fructosa, la concentración obtenida por CLAR difirieron respecto con la concentración de las bebidas suministradas a las ratas. Entre las posibles causas de las diferencias entre las concentraciones experimentales encontradas mediante CLAR para la fructosa se encuentran la preparación o dilución de la muestra por lo que, para verificar que la preparación de la muestra no haya sido la causa que influyó en esa diferencia se deberá investigar inyectando un mayor número de muestras experimentales al azar para verificar que se esté suministrando la cantidad deseada de edulcorante
- Para el caso del aspartame, debido a que la presentación del mismo viene en sobres de 1 g, no se sabe si la concentración reportada en la etiqueta sea la correcta, por lo que se

tendrán que analizar varios sobres de varios lotes para saber si realmente las concentraciones establecidas en el producto son las señaladas por el fabricante

- Para la glucosa, el acesulfame de K y la sacarosa no hubieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la concentración obtenida mediante CLAR y las concentraciones que se manejan experimentalmente de las bebidas suministradas a las ratas
- Los edulcorantes sacarina y sucralosa no se incluyeron en esta investigación debido a que no se pudieron cuantificar por la suspensión de actividades de investigación debido a la pandemia causada por el virus COVID-19.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación será adecuado analizar un mayor número de lotes de bebidas para así poder verificar las causas de los posibles errores que se ven implicados en la elaboración de las bebidas ya sea por parte del analista o en la preparación de las muestras.

También será pertinente disminuir la concentración de estudio ya que al manejar concentraciones altas de estos compuestos la columna y el equipo se pueden llegar a saturar, lo cual arroja errores al momento de cuantificar dichos compuestos.

## ANEXO 1

### CURVAS DE CALIBRACIÓN

**Tabla 8. Curva de calibración de acesulfame de potasio**

<b>Concentración mg/L</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
900	11242925	10996684.67	256162.8885	2.329455615
	11015493			
	10731636			
800	9209138	9222131.333	61844.31564	0.6706076221
	9289440			
	9167816			
700	8643024	8583237	61553.67665	0.717138262
	8586630			
	8520057			
600	7822161	7702559	103610.398	1.345142543
	7645334			
	7640182			
500	6338609	6257802.4	58164.8818	0.9294777636
	6295303			
	6223527			
	6236895			
400	6194678	4469221.5	10178.80212	0.2277533596
	4462024			
300	4476419	3191332.5	7197.639926	0.2255371362
	3186243			
200	3196422	2261690	31294.16302	1.383662793
	2274548			
	2284507			
100	2226015	1116712.333	5640.26669	0.5050778541
	1122174			
	1110909			

<b>Concentración mg/L</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
	1117054			
90	881499	885405.6667	3822.017443	0.4316685093
	889137			
	885581			

**Tabla 9. Curva de calibración de fructosa**

<b>Concentración mg/L</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
60000	3021	2946	9.192388155	0.312029469
	2915			
	2902			
50000	2244	2219.666667	24.50170062	1.103845951
	2195			
	2220			
40000	1970	1956.666667	30.28751118	1.547913689
	1922			
	1978			
30000	1421	1413.666667	48.41831609	3.425016465
	1458			
	1362			
20000	1044	1050.6	7.924645102	0.7542970781
	1043			
	1048			
	1060			
	1058			

**Tabla 10. Curva de calibración de sacarosa**

<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
65	29823	29857	364.1922569	1.219788515
	30237			
	29511			
60	28287	28471	159.5493654	0.5603925587
	28555			
	28571			
55	27337	27723.5	546.5935419	1.971589236
	28110			
50	23638	23629.33333	54.5191098	0.2307263985
	23571			
	23679			
45	22816	22409.75	292.7198604	1.306216537
	22137			
	22409			
	22277			
40	21711	21140.33333	452.0652608	2.138401763
	20928			
	20782			
35	19282	19241.33333	98.14954576	0.5100974244
	19452			
	18990			
30	17644	17467	541.6428713	3.100949627
	17898			
	16859			

**Tabla 11. Curva de calibración de glucosa**

<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
19000	45276	44955.5	453.2554467	1.008231355
	44635			
18000	41957	41151.5	1139.149024	2.768183479
	40346			
17000	38107	39322.66667	1333.603389	3.391436803
	39993			
	39868			
16000	36739	36659.66667	325.3372609	0.8874528617
	36302			
	36938			
15000	33359	33120.66667	511.5323385	1.54445061
	32473			
	33530			
14000	28466	28748.6	235.0442512	0.8175850342
	28800			
	29048			
	28867			
	28562			
13000	26238	26292	48.81598099	0.1856685722
	26305			
	26333			
12000	21647	21470	375.2372583	1.747728264
	21724			
	21039			



**Tabla 12. Curva de calibración de aspartame**

<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
538	4441710	4536993	123538.7605	2.722921559
	4492696			
	4676573			
488	4083017	4033527.5	69988.7221	1.73517404
	3984038			
438	3757860	3838066.667	69461.01089	1.809791672
	3878170			
	3878170			
388	3553375	3544918	23290.99884	0.6570250381
	3518580			
	3562799			
338	3182623	3108951.333	92054.08007	2.96093667
	3138473			
	3005758			
288	1815785	1818699.75	6592.233682	0.3624695985
	1819491			
	1827475			
	1812048			
238	1692054	1689785	3208.850573	0.1898969735
	1687516			
188	1215455	1210129	6033.80535	0.4986084417
	1211356			
	1203576			
138	652995	653055	84.85281374	0.01299321095
	653115			
88	446232	446722.3333	2502.786913	0.5602556054
	444501			
	449434			

## ANEXO 2

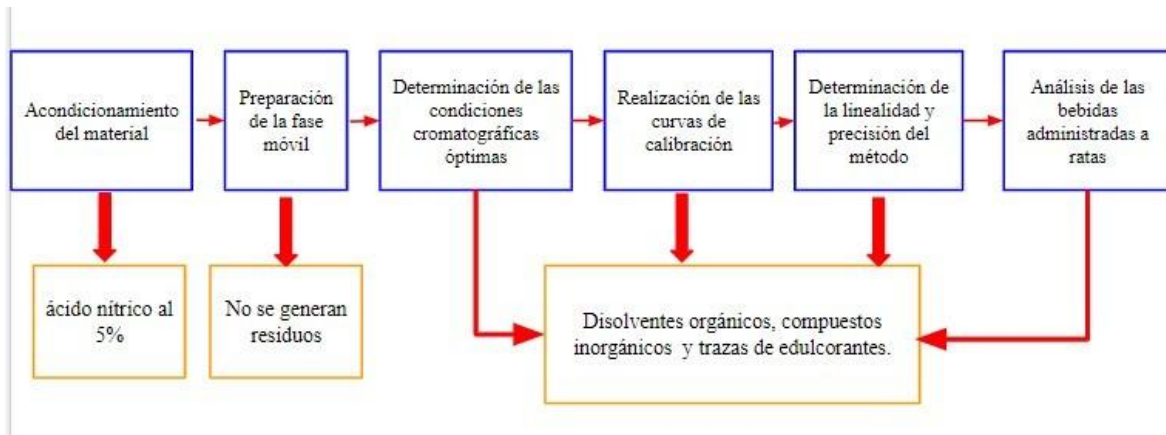
**Tabla 13. Análisis de bebidas suministradas a ratas**

<b>Edulcorante</b>	<b>Área bajo la curva</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
Acesulfame de K	5989216	500.94	1.8799	0.3766
	5965833	499.05		
	5942568	497.18		
Aspartame	1995619	262.513	0.4311	0.1644
	1994610	262.41		
	1987883	261.72		
Fructosa	1987	72552.44	2054.75	2.7711
	2010	73426.57		
	2090	76467.01		
Sacarosa	22951	100232.08	3379.52	3.47709
	22531	97795.18		
	21800	93553.81		
Glucosa	28945	139665.64	1540.51	1.0940
	29117	140193.25		
	29888	142558.28		

## ANEXO 3

### Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

En la siguiente figura se muestra la metodología, así como los diferentes residuos generados en cada etapa del procedimiento.



**Figura 14. Diagrama de flujo del procedimiento y los residuos producidos en esta investigación**

Al momento de acondicionar el material que se utilizó en esta investigación se produjeron aproximadamente 5 litros de ácido nítrico al 5 %, los cuales se neutralizaron con NaOH.

Los demás residuos generados durante el procedimiento fueron entregados a las autoridades competentes del laboratorio siguiendo los protocolos establecidos para el control de residuos generados siendo dispuestos por la Unidad de Gestión Ambiental, UGA, de la Facultad de Química de la UNAM.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ager, D. J., Pantaleone, D. P., Henderson, S. A., Katritzky, A. R., Prakash, I., Walters, D. E. 1998. Commercial, synthetic nonnutritive sweeteners. *Angewandte Chemie International Edition*, 37(13-14):1802-1817. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19980803\)37:13/14<1802::AID-ANIE1802>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19980803)37:13/14<1802::AID-ANIE1802>3.0.CO;2-9)
- Aldrete-Velasco, J., López-García, R., Zúñiga-Guajardo, S., Riobó-Serván, P., Serra-Majem, L., Suverza-Fernández, A., Esquivel-Flores, M.G., Molina-Segui, F., Pedroza-Islas, R., Rascón-Hernández, M., Díaz-Madero, S., Tommasi-Pedraza, J., Laviada-Molina, H. 2017. Análisis de la evidencia disponible para el consumo de edulcorantes no calóricos. Documento de expertos. *Medicina interna de México*, 33(1):61-83. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2017/mim171h.pdf>
- Baduí, S. 2006. *Química de los alimentos*. Pearson Educación, 4ª edición. Ciudad de México, México.
- Borrego, F. 2000. Edulcorantes de alta intensidad en bebidas refrescantes. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 19(4):115-119.
- Cabezas-Zabala, C. C., Hernández-Torres, B. C., Vargas-Zárate, M. 2016. Azúcares adicionados a los alimentos: efectos en la salud y regulación mundial. *Revisión de la literatura. Revista de la Facultad de Medicina*, 64(2):319-329. doi: <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v64n2.52143>.
- Calzada-León, R., Ruiz-Reyes, M., Altamirano-Bustamante, N., Padrón-Martínez, M. 2013. Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Acta Pediátrica de México*, 34 (3):141-153. <https://www.redalyc.org/pdf/4236/423640342005.pdf>

- Castillo, B., González, R. 1996. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia* 30 (1):1-10. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75151996000100009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100009)
- Castro-Carrasco, R. E. 2001. *Manual de edulcorantes*. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Cárabez, A., Chavarría A. 2013. Bioquímica de Laguna. Capítulo Química de los Carbohidratos. Pp. 201-214. Casa editorial. 7ª edición. [Fecha de consulta: 12 de abril del 2020]. [https://www.academia.edu/40801283/Laguna\\_](https://www.academia.edu/40801283/Laguna_)
- Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. 2014. Artificial sweeteners—a review. *Journal of food science and technology*, 51(4):611-621. doi: 10.1007/s13197-011-0571- 1
- Cruz-Mojica, K. G. 2019. *Desarrollo de una metodología analítica por cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas para la identificación de ácido carmínico y sus metabolitos en lana teñida con grana cochinilla (Dactylopius coccus)*. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Díaz-Campos, B.G. 2014. *Aspectos comparativos de la revalidación de método en el cambio de columnas analíticas utilizadas en cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)*. Tesis profesional. UNAM. Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- 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. Diario Oficial de la Federación: jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.

Durán, S., Cordon, K., Rodríguez, M. D. P. 2013. Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de 'peso'<sup>3</sup>. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(3):309-314. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000300014>

FAO. 2014. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [Fecha de consulta: 12 de abril del 2020]. <http://www.fao.org/search/es/?cx=018170620143701104933%3Aqvqiwqrhqq&q=aspartame&x=4&y=5&cof=FORID%3A9>

Fennema, O.R. 2010. *Química de los Alimentos*. Acribia Editorial. 3ª edición. Zaragoza, España.

Foitzich, A. 2013. *Desarrollo y validación de una metodología para determinar azúcares simples en matrices orgánicas mediante HPLC- IR*. Tesis profesional. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

García-Almeida, J. M., Casado-Fdez, G. M., García-Alemán, J. 2013. Una visión global y actual de los edulcorantes: Aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*. 28:17-31. [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112013001000003](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000003)

Gerena-Baron, F.M. 2013. *Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscaras de naranja (Citrus sinensis L. var valencia) y papa (Solanum tuberosum) variedad diacol Capiro (r-12) para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos*. Tesis profesional. UNAD. Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería. Duitama, Colombia. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/1528/46455179pdf.pdf;jsessionid=FB0A776A82C23EA8E2D52B687995A421.jvm1?sequence=1>

---

<sup>3</sup> El peso y la masa NO son sinónimos. El peso es una fuerza y se mide en Newtons y la masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kilogramos (nota de la asesora)

- González-Filomeno, E. 2007. *Efecto biológico de la adición de fructosa, sacarosa, sucralosa o aspartame al agua de beber mediante el suministro a ratas de laboratorio*. Tesis profesional (Química de Alimentos). Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 10. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/pd2007/0622237/Index.html>
- Guerrero, T., Mora, G. 2014. Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame. *Enfoque UTE*, 5(2): 1-13. doi: <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v5n2.36>
- Giannuzzi, L., Molina Ortiz, S. 1995. Edulcorantes naturales y sintéticos: Aplicaciones y aspectos toxicológicos. *Acta Farm. Bonaerense*, 14(2):119-133. [http://www.latamjpharm.org/trabajos/14/2/LAJOP\\_14\\_2\\_2\\_1\\_O7PY4U1EJI.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/14/2/LAJOP_14_2_2_1_O7PY4U1EJI.pdf)
- Hamilton, V., Guzmán, E., Golusda, C., Lera, L., Cornejo, V. 2013. Edulcorantes no nutritivos e ingesta diaria admisible en adultos y niños de ‘peso’<sup>4</sup> normal y obesos de tres niveles socioeconómicos, y un grupo de diabéticos de la Región Metropolitana. *Revista Chilena de Nutrición*. 40(2):123-128. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000200005>
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 1981. Evaluation of certain food additives (en línea) [Fecha de consulta: 12 de abril del 2020]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41524/WHO\\_TRS\\_669.pdf;jsessionid=E6FE235085163E038E622F883CBF2A38?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41524/WHO_TRS_669.pdf;jsessionid=E6FE235085163E038E622F883CBF2A38?sequence=1)
- Jeréz-López, L.C. 2008. *Control de la inversión de la sacarosa en el proceso de elaboración de jarabe simple de bebidas carbonatadas*. Tesis profesional. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. Ciudad de Guatemala, Guatemala.
- 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.

---

<sup>4</sup> Ver nota 3

- Lawrence, J. F., Charbonneau, C. F. 1988. Determination of seven artificial sweeteners in diet food preparations by reverse-phase liquid chromatography with absorbance detection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71(5): 934-937.
- Martínez-Montes, F., Pardo-Vázquez, J. P., Riveros-Rosas, H. 2013. *Bioquímica de Laguna y Piña. Capítulo Química de los Carbohidratos*. Pp. 201-214. Editorial: Manual Moderno. 7ª edición. Ciudad de México. México.
- Martínez, C., González, E., García, R.S., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., Gracia, I., Tovar, C., Durán-de-Bazúa, C. 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. ISSN 1876-8237.  
<https://benthamopen.com/contents/pdf/TOOBESJ/TOOBESJ-2-116.pdf>
- Martínez-Tinajero, C. 2010. *Efecto biológico de la adición de sacarosa, fructosa y/o edulcorantes artificiales al agua de beber suministradas a ratas de laboratorio*. Título de Química Farmacéutica Bióloga. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Marzo 2007 (Título otorgado el 15 de diciembre de 2010). Ciudad de México, México.
- Martínez-Tinajero, C. M., González-Filomeno, E., García-Gómez, R. S., Salas-Garrido, G., Gracia-Mora, I., Tovar-Palacio, C., Durán-de-Bazúa, C. 2008. *Efecto de la ingesta de endulzantes hipocalóricos con el agua de beber en ratas de laboratorio comparada con dos controles (agua con y sin azúcar)*. Revista ATAM (Asociación de Técnicos Azucareros de México, A.C.). 17(2):15-23.
- Martínez-Tinajero, C., González-Filomeno, E., García-Gómez, R. S., Constantino-Casas, F., Gracia-Mora, I., Durán-de-Bazúa, C. 2007. Riesgos sobre la ingesta crónica de algunos edulcorantes naturales. *Bebidas Mexicanas*. 16(4):12-14,16-20,22. ISSN 0188-8080



Mendoza-Pérez, S. 2021. *Efecto de los edulcorantes nutritivos y no nutritivos sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis*. Tesis de Doctorado. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM. En proceso de graduación. Ciudad de México, México.

Mendoza-Pérez, S. 2017. *Efecto de la ingesta de diferentes edulcorantes sobre la liberación de las hormonas incretinas GLP-1 y GIP y su efecto sobre la lipogénesis*. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Marzo 14. Ciudad de México, México.  
<http://132.248.9.195/ptd2017/febrero/0755418/Index.html>

Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R. S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M. I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Pérez-Armendáriz, E. M., Bustamante-García, R., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2021b. Consumption of sweeteners at different stages of life: Effects on body mass and food and drink intake in male and female Wistar rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.  
<https://doi.org/10.1080/09637486.2021.1888077>

Mendoza-Pérez S., Guzmán-Gómez, M. B. †, García-Gómez, R. S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M. I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2021a. Effects on weaned male Wistar rats after 104, 197, and 288 days of chronic consumption of nutritive and non nutritive additives in water. *Journal of Food Science and Technology*. 58(6):2349-2359.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-020-04746-2>

Mendoza-Pérez, S., Reyes-Díaz, C.A., Pérez-Rico, J.M., García-Gómez, R.S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M.I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. 2019. Efecto del consumo crónico de edulcorantes naturales y artificiales en la ganancia de masa corporal en ratas macho. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4:484-497. ISSN 2448-7503.  
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/4/67.pdf>

- Moreno, A. 2016. *Plan de capacitación para el personal de nuevo ingreso en cromatografía de líquidos de alta resolución*. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Navarro, M. 2006. *Aspectos bromatológicos y toxicológicos de los edulcorantes*. Ediciones Díaz de Santos. P. 475-492. Ciudad de México, México.
- O'Brien, L. 2001. Alternative sweeteners. Volumen 112, *The Food Science and Technology*. Marcel Dekker. Third edition. Revised and Expanded. Washington, Estados Unidos.  
[https://www.academia.edu/26969854/Alternative\\_Sweeteners](https://www.academia.edu/26969854/Alternative_Sweeteners)
- Ortega-Gutiérrez, M. M. 2010. *Desarrollo de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la determinación de edulcorantes naturales y artificiales (acesulfame de potasio, aspartame, sucralosa, sacarina, fructosa y sacarosa)*. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química. México. D.F. México.
- Patel, R. M., Sarma, R., Grimsley, E. 2006. Popular sweetener sucralose as a migraine trigger. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 46(8):1303-1304.  
doi: [https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2006.00543\\_1.x](https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2006.00543_1.x)
- Quattrocchi, O. A., Abelaira, S.I., Laba, R.F. 1992. *Introducción de la HPLC. Aplicación y práctica*. Artes Gráficas Farro S.A. Primera edición. Buenos Aires.  
[https://www.researchgate.net/publication/315771927\\_Introduccion\\_a\\_la\\_HPLC\\_Aplicacion\\_y\\_Practica](https://www.researchgate.net/publication/315771927_Introduccion_a_la_HPLC_Aplicacion_y_Practica)
- Queneau, Y., Jarosz, S., Lewandowski, B., Fitremann, J. 2007. Sucrose chemistry and applications of sucrochemicals. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 61:217-292. doi: 10.1016 / S0065-2318 (07) 61005-1

- Quezadas-Jardón, K.G. 2012. *Planeación estratégica en la comercialización de alta fructosa. Tesis profesional*. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Rippe, J. M., Angelopoulos, T. J. 2016. Relationship between added sugars consumption and chronic disease risk factors: current understanding. *Nutrients*, 8(11), 697-716. doi: 10.3390 / nu8110697.
- Romo, A. 2018. Edulcorantes energéticos y no energéticos: Utilidad y efectos secundarios. *Nutrición en Gastroenterología: Aspectos Clínicos y Dietéticos*. 1(23): 265-280.  
[https://www.researchgate.net/publication/329101007\\_Edulcorantes\\_energeticos\\_y\\_no\\_energeticos\\_utilidad\\_y\\_efectos\\_secundarios](https://www.researchgate.net/publication/329101007_Edulcorantes_energeticos_y_no_energeticos_utilidad_y_efectos_secundarios)
- Rycerz, K., Jaworska-Adamu, J. E. 2013. Effects of aspartame metabolites on astrocytes and neurons. *Folia Neuropathol*, 51(1):10-7. doi: 10.5114/fn.2013.34191
- Sacristán, M., Díaz, E. M., Alarcón, B., Vicente, C., Legaz, M. E. 2011 Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte III. Práctica de laboratorio: optimización en la separación de compuestos semejantes mediante modificación de la fase móvil. *Reduca (Biología). Serie Técnicas y Métodos*. 4(3): 48-78
- Salazar, M. Q., Peñaranda, A. H. 2012. Producción de jarabe de fructosa con enzimas inmovilizadas en un proceso continuo a partir de tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). *Revista de Ciencia y Tecnología*, 28(1-2).
- Sánchez-Gómez. 2014. *Edulcorantes: utilización y aprovechamiento en diferentes procesos de la industria alimentaria*. Tesina. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química. Estado de México, México. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/14818>

Serra-Majem, L., Riobó-Serván, P., Belmonte-Cortés, S., Anadón-Navarro, A., Aranceta-Bartrina, J., Franco-Vargas, E., García-Closas, R., Gómez-Candela, C., Herrero-Sancho, E., La Vecchia-Carlos., López-Díaz-Ufano, M., Varela-Moreiras, G., Vázquez-Castro, J., Ribas-Barba, L., Alcaraz-Cebrián, F., García-Luna, P. P., González-Gomis, M., González-Gross, M., Granado de la Orden, S., López-Sobaler, A. M., Moreno-Villares, J. M., Ortega-Anta, R. M., Pérez-Rodrigo, C., Polanco-Allué, I., Urrialde de Andrés, R. 2014. Chinchón declaration; decalogue on low-and no-calorie sweeteners (LNCS). *Nutrición hospitalaria*,29(4):719-734. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309231669004>.

SCF. 2000. *Opinion on the reevaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion of 1991 (expressed on 9 March 2000)*. Scientific Committee on Food. [Fecha de consulta: 12 de abril del 2020]. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/scf/out52\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/scf/out52_en.pdf)

SCF. 1985. *Sweeteners-Opinion expressed on 14 September 1984. Reports of the Committee for Food (16<sup>th</sup> series)*. Scientific Committee on Food. [Fecha de consulta: 12 de abril del 2020]. [https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com\\_scf\\_reports\\_16.pdf](https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com_scf_reports_16.pdf)

Shankar, P., Ahuja, S., Sriram, K. 2013. Non-nutritive sweeteners: review and update. *Nutrition*, 29(11-12):1293-1299. doi: 10.1016 / j.nut.2013.03.024

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. 2008. *Principios de análisis instrumental*. Mc Graw Hill. 6<sup>a</sup> edición. Ciudad de México, México.

Snyder, L., Kirkland, J. 1979. *Introduction to modern liquid chromatography*. Wiley-Interscience Publication. Second edition. New York, Estados Unidos. [Fecha de consulta: 14 de abril del 2020]. [https://fac.ksu.edu.sa/sites/default/files/introduction\\_to\\_modern\\_liquid\\_chromatography.pdf](https://fac.ksu.edu.sa/sites/default/files/introduction_to_modern_liquid_chromatography.pdf)

