

# UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



## ESTUDIO DE EDULCORANTES NO NUTRITIVOS EN LECHES Y NÉCTARES DE FRUTA DESTINADOS AL CONSUMO INFANTIL MEDIANTE DESARROLLO DE METODOLOGÍA ANALÍTICA HPLC-MS/MS Y VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE NORMATIVAS DE SEGURIDAD NACIONAL E INTERNACIONAL.

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado  
de Magíster en Ciencias de los Alimentos por:

**YANINA FRANCISCA CORROTEA VARAS**

Director/a de Tesis: Msc. Nalda Romero Palacios

Co-Director/a de Tesis: Msc. Betsabet Sepúlveda Cortés

Msc. Lorena Delgado Rivera

**Santiago - Chile**

**SEPTIEMBRE, 2024**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS (AFE A TESIS) DE MAGÍSTER.**

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la AFE a Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

***YANINA FRANCISCA CORROTEA VARAS***

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de AFE a Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos, en el examen público rendido el día

---

**Director de Tesis:**

Msc. Nalda Romero Palacios

\_\_\_\_\_

**Co-director de Tesis:**

Msc. Betsabet Sepúlveda Cortés

\_\_\_\_\_

Msc. Lorena Delgado Rivera

\_\_\_\_\_

**Comisión Evaluadora de Tesis:**

Dra. Tatiana Garrido Reyes

\_\_\_\_\_

Dr. Ociel Muñoz Fariña

\_\_\_\_\_

Dra. Cielo Char

\_\_\_\_\_

*Le dedico esta tesis a mi madre Gloria, quien ha sido un pilar fundamental en mi vida y me ha enseñado que uno siempre debe dar lo mejor de sí mismo y a que nada es imposible y esta no fue la excepción. Tu amor, enseñanza y sabiduría me han hecho crecer y cumplir mis sueños.*

*A mi amado César, este camino no habría sido el mismo sin su apoyo. Tu amor incondicional, tus consejos, la motivación que me das y tu compañía hicieron posible este logro. Estoy eternamente agradecida de ti. Tu siempre estuviste ahí para recordarme lo capaz que soy.*

*A mi hermana Carolina, su esposo Víctor, a mis sobrinos Ema y Vicente, por su amor, por estar siempre a mi lado y darme seguridad, relax, buena compañía y compartir sus experiencias como ejemplo a seguir.*

*A mi tía Johanna y prima Lilia por su amor, compañía y consejos, los cuales fueron fundamentales en este proceso.*

*A la memoria de mi querida abuela Lucía, quién me enseñó a confiar en mis conocimientos y a disfrutar de cada momento de la vida.*

*A mis mascotas amadas Oso, Gala, Dracco y Canela, su alegría y amor me ayudaron a recargar energías cuando lo necesité. Son mi mejor terapia.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Instituto de Salud Pública de Chile por permitirme realizar el magíster en Ciencias de los Alimentos y a los funcionarios del Laboratorio de Aditivos, Nutrientes y Contaminantes de la Sección Química de Alimentos del Departamento Nacional y de Referencia en Salud Ambiental; Danahe Allende, Bárbara Riveros y Marcia Becerra por su apoyo incondicional.

A mis compañeros de la Sección Química de Alimentos; Natalia A., Natalia V., Luis H., Gabriela R., Muriel A., Doris C., Kienberley O., Lorena D., Claudio C., Beatriz G., Katherine P., Nicole D., Irene T., César A y a mis jefaturas Katia Calderón e Iván Triviño.

Agradezco a la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas por abrir sus puertas para poder mediante el Magister en Ciencias de los Alimentos perfeccionar mis conocimientos.

Agradezco a mi Directora de tesis profesora Nalda Romero de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas por ser una gran guía en el desarrollo de mi tesis y por todo lo enseñado en este camino.

A mi Co-Directora profesora Betsabet Sepúlveda de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, por estar siempre presente y muy dispuesta a atender mis dudas, por darme la seguridad de poder lograr este desafío y por la confianza depositada en mí.

A mi Co-Directora Lorena Delgado funcionaria del Instituto de Salud Pública de Chile, Sección Química de Alimentos, por su dedicación, constante apoyo, compañía y por ser una gran guía en el desarrollo de mi tesis.

A la comisión evaluadora; profesoras Tatiana Garrido y Cielo Char de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, profesor Osiel Muñoz de la Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias por su importante guía durante todo el desarrollo de la tesis, por permitirme crecer con cada consejo y lograr una tesis exitosa.

A la escuela de postgrado de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, por su paciencia, comprensión y siempre buena disposición a atender mis dudas.

## INDICE DE CONTENIDOS

Índice de Tablas.	vii
Índice de Figuras.	ix
Lista de abreviaturas	x
Resumen.	xi
<b>I.</b> Introducción.	<b>1</b>
<b>II.</b> Hipótesis.	<b>15</b>
<b>III.</b> Objetivos.	<b>16</b>
<b>3.1.</b> Objetivo General.	<b>16</b>
<b>3.2.</b> Objetivos Específicos.	<b>16</b>
<b>IV.</b> Materiales y métodos.	<b>17</b>
<b>4.1.</b> Reactivos.	<b>17</b>
<b>4.2.</b> Estándares.	<b>17</b>
<b>4.3.</b> Equipos utilizados.	<b>17</b>
<b>4.4.</b> Materiales.	<b>17</b>
<b>4.5.</b> Soluciones.	<b>18</b>
<b>4.6.</b> HPLC-MS/MS.	<b>18</b>
<b>4.7.</b> Caracterización cromatográfica mediante HPLC-MS/MS.	<b>18</b>
<b>4.8.</b> Extracción de edulcorantes.	<b>19</b>
<b>4.9.</b> Muestras.	<b>19</b>
<b>4.10.</b> Validación de acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina y sucralosa en matrices de leche y jugo, mediante HPLC-MS/MS.	<b>20</b>
<b>4.11.</b> Análisis muestras de supermercados de leches y néctares de fruta endulzados con edulcorantes no nutritivos.	<b>25</b>
<b>4.12.</b> Contrastación de los ENN encontrados cromatográficamente en cuanto a la declaración en el producto y cumplimiento con la reglamentación nacional e internacional utilizada.	<b>26</b>
<b>4.13.</b> Evaluación de ingesta de ENN en niños de 2 a 9 años determinación de eventual superación de la IDA establecida como segura al consumir productos que contengan estos aditivos en su lista de ingredientes.	<b>26</b>
<b>4.14.</b> Cálculo de máxima cantidad de consumo, por porción y por día de las matrices analizadas en el laboratorio y del estudio de rótulo en el supermercado, para niños pequeños y niños.	<b>27</b>
<b>V.</b> Resultados.	<b>28</b>
<b>5.1.</b> Caracterización cromatográfica mediante HPLC-MS/MS.	<b>28</b>
<b>5.1.1.</b> Condiciones optimizadas del MS/MS.	<b>28</b>
<b>5.1.2.</b> Condiciones optimizadas para HPLC.	<b>28</b>
<b>5.2.</b> Validación de la metodología para la determinación de acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina, sucralosa, por HPLC-MS/MS en matrices de leche y jugo.	<b>31</b>
<b>5.2.1.</b> Linealidad.	<b>31</b>
<b>5.2.2.</b> Límites de cuantificación y detección.	<b>36</b>
<b>5.2.3.</b> Veracidad.	<b>39</b>

<b>5.2.4.</b>	<b>Precisión.</b>	<b>39</b>
<b>5.2.5.</b>	<b>Estimación de la incertidumbre.</b>	<b>42</b>
<b>5.3.</b>	<b>Análisis muestras de leches y néctares endulzados con edulcorantes no nutritivos adquiridas en Supermercados de dos comunas de la Región Metropolitana.</b>	<b>43</b>
<b>5.4.</b>	<b>Contrastación de los ENN encontrados analíticamente en cuanto a la declaración en el producto y cumplimiento con la reglamentación nacional e internacional utilizada.</b>	<b>47</b>
<b>5.5.</b>	<b>Evaluación del riesgo de exposición a ENN en niños de 2 a 9 años.</b>	<b>53</b>
<b>5.6.</b>	<b>Cálculo de máxima cantidad de consumo, por porción y por día de las matrices analizadas en el laboratorio y del estudio de rótulo en el supermercado, para niños pequeños y niños .</b>	<b>62</b>
<b>VI.</b>	<b>Discusión.</b>	<b>65</b>
<b>VII.</b>	<b>Conclusiones.</b>	<b>71</b>
<b>VIII.</b>	<b>Recomendaciones.</b>	<b>74</b>
<b>IX.</b>	<b>Bibliografía.</b>	<b>76</b>
<b>Anexos.</b>		<b>83</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Límites de contenido de energía, sodio, azúcares totales y grasas saturadas en alimentos.	<b>3</b>
<b>Tabla 2.</b> Edulcorantes no nutritivos permitidos en Chile, artículo 146 del RSA.	<b>7</b>
<b>Tabla 3.</b> Límites máximos permitidos, según Codex Alimentarius.	<b>21</b>
<b>Tabla 4.</b> Criterios para límites según Codex Alimentarius.	<b>22</b>
<b>Tabla 5.</b> Cálculo de LD y LC esperado para la matriz leche.	<b>22</b>
<b>Tabla 6.</b> Cálculo de LD y LC esperado para la matriz jugo.	<b>23</b>
<b>Tabla 7.</b> Criterios AOAC para la recuperación según concentración.	<b>24</b>
<b>Tabla 8.</b> Programa de gradiente de la fase móvil para separación por HPLC de los edulcorantes en estudio.	<b>28</b>
<b>Tabla 9.</b> Condiciones optimizadas para los analitos seccionados mediante HPLC-MS/MS.	<b>29</b>
<b>Tabla 10.</b> Porcentajes de recuperación para los puntos de curva de 2 y 5 µg/L.	<b>34</b>
<b>Tabla 11.</b> Efecto matriz para jugo.	<b>35</b>
<b>Tabla 12.</b> Efecto matriz para leche.	<b>35</b>
<b>Tabla 13.</b> Coeficientes de determinación para cada edulcorante.	<b>36</b>
<b>Tabla 14.</b> Porcentajes de recuperación de fortificados a 15 mg/L de cada ENN en leche y jugo.	<b>36</b>
<b>Tabla 15.</b> Límites de cuantificación y de detección en leche y jugo.	<b>37</b>
<b>Tabla 16.</b> Criterios de aceptabilidad para límites de cuantificación y detección en matriz jugo y leche.	<b>38</b>
<b>Tabla 17.</b> Porcentajes de recuperación para estudio de veracidad en matrices leche chocolatada y néctar de manzana.	<b>39</b>
<b>Tabla 18.</b> Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 15 mg/L.	<b>40</b>
<b>Tabla 19.</b> Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 60 mg/L.	<b>40</b>
<b>Tabla 20.</b> Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 300 mg/L.	<b>40</b>
<b>Tabla 21.</b> Estudio de precisión intermedia en leche y jugo fortificada a 60 mg/L.	<b>41</b>
<b>Tabla 22.</b> Estudio de precisión intermedia en leche y jugo fortificada a 300 mg/L.	<b>41</b>
<b>Tabla 23.</b> Incertidumbre expandida porcentual para cada ENN en matriz leche y jugo.	<b>42</b>
<b>Tabla 24.</b> Muestras de leche chocolatada con edulcorantes en formato individual.	<b>43</b>
<b>Tabla 25.</b> Muestras de néctar de manzana con edulcorantes en formato individual.	<b>44</b>
<b>Tabla 26.</b> Concentración de edulcorantes declarados en las leches chocolatadas.	<b>45</b>

<b>Tabla 27.</b> Concentración de edulcorantes declarados en los néctares de manzana.	<b>46</b>
<b>Tabla 28.</b> Resultados de concentraciones $\pm$ incertidumbre, de muestras de supermercado de leche líquida y néctares analizadas en el laboratorio.	<b>47</b>
<b>Tabla 29.</b> Comparación valor encontrado con el valor declarado, para la matriz leche.	<b>48</b>
<b>Tabla 30.</b> Comparación de valor encontrado versus valor declarado en jugo de manzana aplicando la incertidumbre del método.	<b>48</b>
<b>Tabla 31.</b> Resumen de concentraciones máximas encontradas, utilizadas en la evaluación de exposición.	<b>54</b>
<b>Tabla 32.</b> Levantamiento de información relativa a ENN en productos consumidos por niños disponibles en supermercados visitados.	<b>55</b>
<b>Tabla 33.</b> Consumo en g o mL al día por matriz alimentaria y por grupo etario. ACHIPIA 2021.	<b>56</b>
<b>Tabla 34.</b> Evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años que consumen productos con ACE-K.	<b>57</b>
<b>Tabla 35.</b> Evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años que consumen productos con SUC.	<b>58</b>
<b>Tabla 36.</b> Evaluación de exposición para niños de 2 y de 3 a 9 años que consumen productos con ASP.	<b>60</b>
<b>Tabla 37.</b> Evaluación de exposición para niños de 2 y 3 a 9 años que consumen productos con estevia.	<b>61</b>
<b>Tabla 38.</b> Porción máxima de producto por porción para un niño de 2 años, con la que no se supera el IDA respectivo por aditivo.	<b>62</b>
<b>Tabla 39.</b> Porción máxima de producto por porción para un niño de 3 a 9 años, con la que no se supera el IDA respectivo por aditivo.	<b>63</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química, CAS y peso molecular de seis edulcorantes (Scheurer et al, 2009).		<b>6</b>
<b>Figura 2.</b> Separación cromatográfica de ACE-K, SAC, CYC, SUC ASP en solvente.	y	<b>29</b>
<b>Figura 3.</b> Señal cromatográfica de SUC-d6 en solvente.		<b>30</b>
<b>Figura 4.</b> Separación cromatográfica de ACE-K, SAC, CYC, SUC ASP en matriz leche chocolatada fortificada a 100 ppb.	y	<b>30</b>
<b>Figura 6.</b> Curva Acesulfamo-K desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.		<b>31</b>
<b>Figura 7.</b> Curva Sacarina desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.		<b>32</b>
<b>Figura 8.</b> Curva Ciclamato desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.		<b>32</b>
<b>Figura 9.</b> Curva Sucralosa desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada y roja ion cualificador.		<b>32</b>
<b>Figura 10.</b> Curva Aspartamo desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada y rosada ion cualificador.		<b>33</b>
<b>Figura 11.</b> Concentraciones de ASP cuantificadas en mg/L de producto y comparadas con el LMP Codex.		<b>50</b>
<b>Figura 12.</b> Concentraciones de ACE-K cuantificables en mg/L de producto y comparadas con el LMP según Codex.		<b>51</b>
<b>Figura 13.</b> Concentraciones de sucralosa cuantificables en mg/L de producto y comparadas con el LMP según Codex.		<b>52</b>
<b>Figura 14.</b> Concentraciones de sucralosa cuantificables en mg/L de producto matriz leche chocolatada y comparadas con el LPM según Codex.		<b>53</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
OMS	Organización Mundial de Salud
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
JECFA	Comité conjunto de expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura sobre aditivos alimentarios
RSA	Reglamento Sanitario de los Alimentos
IDA	Ingesta diaria admisible
ENN	Edulcorante no nutritivo
ENT	Enfermedades no transmisibles
ACE-K	Acesulfamo de potasio
ASP	Aspartamo
CYC	Ciclamato
SAC	Sacarina
SUC	Sucralosa
LMP	Límite máximo permitido
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
FT	Fortificado
AOAC	Sigla en inglés que significa en español Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.
ACHIPIA	Agencia Chilena para la Inocuidad Alimentaria
CODEX ALIMENTARIUS	Conjunto de Normas Alimentarias
NGAA	Norma General de Aditivos Alimentarios del Codex.
ENS	Encuesta Nacional de Salud
ENCA	Encuesta Nacional de Consumo Alimentario

## RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha identificado los azúcares como un componente dietético asociado con el aumento de las tasas de sobrepeso y obesidad, dos factores de riesgo principales involucrados en la aparición de enfermedades como la enfermedad coronaria, diabetes y síndrome metabólico. La OMS ha establecido que existe una clara necesidad de disminuir el contenido de azúcar en la dieta, especialmente a aquellos destinados a niños y adolescentes, alentando a los fabricantes de alimentos y bebidas a reformular y reducir la densidad de energía derivada de azúcares agregados a sus productos.

Los edulcorantes son ampliamente utilizados en las industrias alimentarias para mejorar el sabor dulce y reemplazar los azúcares en los alimentos para reducir la ingesta calórica, así como para los diabéticos para quienes se recomienda la restricción de azúcar. El Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), menciona en su artículo N° 146 los edulcorantes no nutritivos (ENN) que pueden ser usados y en qué alimentos se pueden utilizar. El objetivo general de la tesis fue realizar la determinación de ENN contenidos en alimentos destinados al consumo infantil, específicamente, leche y néctares de fruta, aplicando una metodología validada por cromatografía líquida / espectrometría masas en tándem (HPLC-MS/MS). Determinar, además, si los ENN cumplen con la reglamentación vigente nacional e internacional y si su uso es seguro para el grupo etario entre los 2 y los 9 años de edad. Para llevar a cabo la investigación se extrajeron los ENN, usando agentes clarificantes (carrez) y se determinaron mediante HPLC-MS/MS. Se logró desarrollar una metodología validada para las matrices antes descritas, con lo cual se logró corroborar lo rotulado en cada marca analizada, así como el estudio de cumplimiento de normativa nacional e internacional.

Se realizó la evaluación de exposición para niños de 2 a 9 años, en ambos casos no se supera la Ingesta Diaria Admisible (IDA) establecida como segura, sin embargo, diversas fuentes de incertidumbre deben ser consideradas y han sido detalladas para una mejor estimación, que podría cambiar los resultados obtenidos, y eventualmente superar la IDA para la población infantil. Se espera de esta tesis que se pueda modificar el RSA para que existan LMP que regulen de mejor manera el uso de ENN, así como seguir implementando leyes que ayuden a proteger a la población más vulnerable.

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Antecedentes epidemiológicos en la población chilena y el mundo.

La prevalencia de la obesidad infantil ha aumentado en las últimas décadas, con causas complejas a nivel individual y ambiental. (Koch et al., 2019). En todo el mundo, la obesidad casi se triplicó entre 1975 y 2016; para 2016, más de 650 millones de adultos eran obesos, aproximadamente el 13% de la población adulta del mundo. Entre los niños y adolescentes de 5 a 19 años, la tasa global de obesidad aumentó del 1% en 1975 al 6% de las niñas y el 8% de los niños en 2016 (Bentley et al., 2020).

Según la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017, sólo el 24% de la población chilena se encuentra en peso normal, siendo un 1,3% enflaquecido y el resto entre sobre peso (39,8 %), obeso (31,2%) y mórbido (3,2%), por otro lado, Chile muestra una tendencia creciente a la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles en la población, donde los estilos de vida relacionados con alimentación y nutrición constituyen uno de los principales factores de riesgo (ENS 2017).

Los organismos internacionales, como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), promueven que los gobiernos realicen acciones tendientes a educar a la población para la selección de alimentos que les sean saludables, y que las normas establecidas en cada país contribuyan a este fin (Zacarías y Vera, 2005).

La OMS ha identificado los azúcares como un componente dietético asociado con el aumento de las tasas de sobrepeso y obesidad, dos factores de riesgo principales involucrados en la aparición de enfermedades no transmisibles (ENT) como la enfermedad coronaria, diabetes y síndrome metabólico (OMS, 2003). La OMS ha establecido que existe una clara necesidad de disminuir el contenido de azúcar en la dieta, especialmente en los productos más consumidos y aquellos destinados a niños y adolescentes (Serra-Majem et al, 2001). En este contexto, se alienta a los elaboradores de alimentos y bebidas a reformular y reducir la densidad de energía derivada de azúcares agregados entre sus productos. (Samaniego-Vaesken et al, 2019). Cabe destacar que el gusto dulce es favorecido por los consumidores a la hora de comprar. Las personas desean instintivamente el placer del dulzor, lo que resulta en preferencia por los alimentos y bebidas dulces (Li et al, 2017).

### **1.2. Reglamentación nacional relativa a etiquetado de alimentos.**

La reglamentación nacional que establece las condiciones sanitarias a que deberá ceñirse la producción, importación, elaboración, envase, almacenamiento, distribución y venta de alimentos para uso humano, así como las condiciones en que deberá efectuarse la publicidad de los mismos, con el objeto de proteger la salud y nutrición de la población y garantizar el suministro de productos sanos e inocuos, corresponde al Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), Decreto N° 977/96, Publicado en el Diario Oficial el año 1997 (RSA, 2024).

La preocupación por implementar un sistema de etiquetado nutricional de los alimentos en Chile, comenzó en el año 1995 liderada por el Ministerio de Salud (MINSAL).

En el año 2009, la Subsecretaría de Salud Pública, aprueba normas técnicas sobre directrices nutricionales, para declarar propiedades saludables para los alimentos (Resolución N°764, 2009). Lo anterior, considerando la tendencia de algunas reacciones alérgicas en personas de mayor sensibilidad, intolerancias alimentarias, y las condiciones de la salud bucal de la población, además, enfermedades cardiovasculares, obesidad, cáncer, hipertensión arterial, diabetes, osteoporosis y anemia. (Resolución N°764, 2009).

### **1.3. Ley 20.606 e incorporación de edulcorantes no nutritivos a formulación de alimentos.**

Con el tiempo, se ha seguido avanzando respecto al desarrollo de nuevos métodos para que la población elija de manera sencilla y saludable los alimentos que va a consumir. La conducta alimentaria de la población chilena y el antecedente del importante índice de obesidad, sustentaron el surgimiento de la Ley 20.606, cuyo objetivo es proteger a la población infantil, favorecer la selección informada de alimentos y disminuir el consumo de alimentos con exceso de energía y nutrientes críticos.

Para poder regular esta ley, se definieron límites, los cuales aparecen descritos en el RSA en su Artículo 120 bis, que determinan el contenido de energía, grasas saturadas, azúcares y sodio en alimentos procesados sólidos y líquidos, a los cuales se les ha añadido sodio, azúcares o grasas saturadas. Los límites se resumen en la Tabla 1 del Artículo 120 bis del RSA (RSA, 2024).

**Tabla 1.** Límites de contenido de energía, sodio, azúcares totales y grasas saturadas en alimentos.

	Energía kcal/100g	Sodio mg/100g	Azúcares totales g/100g	Grasas saturadas g/100g
<b>Límites en alimentos sólidos, valores mayores a</b>	275	400	10	4
	Energía kcal/100 mL	Sodio mg/100mL	Azúcares totales g/100 mL	Grasas saturadas g/100mL
<b>Límites en alimentos líquidos. Valores mayores a;</b>	70	100	5	3

Si los alimentos superan el punto de corte para aplicar los mensajes de advertencia, se debe rotular el alimento en su cara frontal con un símbolo octagonal de fondo color negro y borde blanco, y en su interior el texto “ALTO EN”, seguido de: “GRASAS SATURADAS”, “SODIO”, “AZÚCARES” o “CALORÍAS”, en uno o más símbolos independientes, según corresponda. Las letras del texto deberán ser mayúsculas y de color blanco.

El surgimiento de la Ley 20.606, llevó a la industria alimentaria a realizar modificaciones en sus formulaciones, de tal forma de lograr productos sin sellos y con las mismas o similares características organolépticas, de manera que la población no dejara de consumirlos, es así como en los productos dulces, como yogurt, jugos, leches, postres, galletas, confitería, etc, se ha visto la incorporación de edulcorantes no nutritivos (ENN), los cuales han permitido evitar el sello ALTO EN AZUCAR en estos productos.

Si bien, todos los ENN utilizados por la industria son permitidos debidamente por el RSA, con Ingesta Diaria Admisible (IDA), se ha observado que estos alimentos son ampliamente consumidos por la población infantil, quienes pueden correr mayor riesgo de alcanzar la IDA de estos aditivos alimentarios.

#### **1.4. Estudios chilenos de consumo de edulcorantes antes y después de la Ley 20.606.**

Un estudio realizado en Chile, tuvo como objetivo describir el consumo de seis ENN en una cohorte de preescolares de 4 a 6 años antes de la implementación de la ley 20.606. El estudio arrojó que el 68% de los niños en edad preescolar consumieron al menos una fuente de ENN, la mayoría proveniente de alimentos y bebidas, mientras que el 12% también consumía edulcorantes de mesa. Las bebidas fueron el único grupo de alimentos que contribuyó a la ingesta de los seis ENN estudiados, la ingesta más alta de ENN se observó para el aspartamo, donde la ingesta llega hasta el 99%, según el estudio mencionado (Hargous, 2020). Otro estudio realizado en Chile en el año 2022 (Rebolledo, 2022), tuvo como objetivo estimar los cambios en el consumo de ENN de preescolares después de la primera fase de la ley 20.606. El estudio encontró que hay un aumento en la proporción de consumidores de ENN y en la ingesta media de sucralosa, glucósidos de esteviol, aspartamo y acesulfamo-K post-implementación de la ley. Sin embargo, ninguno de los participantes superó la IDA de los ENN. Los investigadores informaron que, >98% de los productos disponibles contenían ENN, particularmente productos dirigidos a niños como leche saborizada, jugos en polvo y agua saborizada.

Los niños corren el riesgo de superar los límites de ingesta segura, dado que la IDA se calcula en función del peso corporal (Rebolledo, 2022). En el 2020 México implementa la modificación a la Norma Oficial Mexicana 051-SCFI/SSA 12010 en materia de etiquetado, en que incluye una etiqueta de advertencia para ENN, indicando expresamente que su consumo no es recomendado para niños (México, 2021).

#### **1.5. Edulcorantes no nutritivos autorizados a nivel nacional e internacional y posibles efectos en animales y humanos.**

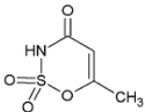
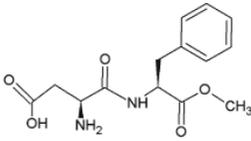
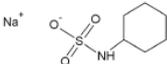
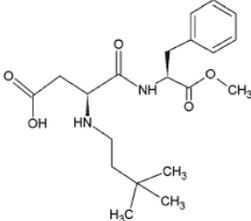
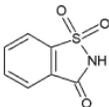
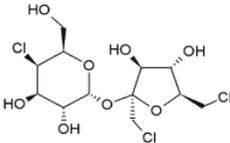
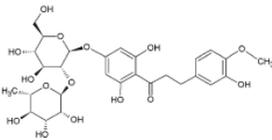
Los ENN son ampliamente utilizados en las industrias alimentarias para mejorar el sabor dulce y reemplazar los azúcares en los alimentos para reducir la ingesta calórica, así como para los diabéticos para quienes se recomienda la restricción de azúcar (Bergamo et al, 2011).

Los edulcorantes se pueden dividir en dos categorías, edulcorantes no nutritivos naturales y edulcorantes no nutritivos sintéticos. En general, los ENN no pueden ser

metabolizados en el cuerpo humano y proporcionan pocas o ninguna caloría. La demanda de alimentos bajos en calorías provoca el uso cada vez mayor de ENN; como resultado, los ENN se han vuelto muy comunes en muchos alimentos y el aumento de su consumo en los últimos años se ha convertido en una tendencia mundial (Chang and Yeh, 2014).

Tempranamente, la exposición involuntaria comienza en el útero y continúa en los bebés que ingieren ENN a través de la leche materna (debido al consumo de edulcorantes de sus madres), mientras que las personas mayores, particularmente las personas con diabetes, con frecuencia usan ENN intencionalmente para reducir el consumo de azúcar. El alcance de los posibles efectos de los ENN es amplio e incluye el metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como la salud ósea, la adipogénesis y la función reproductiva (Rother, 2018). Estudios en ratas macho, mostraron que la ingesta de solución de sacarina aumentó la ingesta de alimentos y la ingesta de energía, los investigadores concluyeron que los receptores periféricos de sabor dulce y los receptores periféricos y centrales de grelina pueden estar involucrados en promover la ingesta de alimentos y el aumento de peso al ingerir sacarina (Zhao, 2018).

Los edulcorantes no nutritivos más usados a nivel mundial son: acesulfamo-K (ACE-K), aspartamo (ASP), ciclamato de sodio (CYC), sacarina (SAC), sucralosa (SUC), alitame (ALI), neotame (NEO) y neohesperidina dihydrochalcona (NHDC), edulcorante semisintético (Zygler et al, 2009). En la Figura 1, se muestran las estructuras químicas de estos edulcorantes.

Compound CAS No Molecular weight (MW)	Chemical structure	Compound CAS No Molecular weight (MW)	Chemical structure
Acesulfame CAS: 33665-90-6 MW: 163.2 g/mol		Aspartame CAS: 22839-47-0 MW: 294.3 g/mol	
(Sodium) Cyclamate CAS: 139-05-9 MW: (201.2) 178.2 g/mol		Neotame CAS: 165450-17-9 MW: 378.5 g/mol	
Saccharin CAS: 81-07-2 MW: 183.2 g/mol		Sucralose CAS: 56038-13-2 MW: 397.6 g/mol	
		Neohesperidin dihydrochalcone (NHDC) CAS: 20702-77-6 MW: 612.6 g/mol	

**Figura 1.** Estructura química, CAS y peso molecular de seis edulcorantes (Scheurer et al, 2009).

Siete edulcorantes artificiales que incluyen acesulfamo (E 950), aspartamo (E 951), ácido ciclámico y sus sales (ciclamato de sodio, E 952), sacarina y sus sales (E 954), sucralosa (E 955), neohesperidina dihidrocalcona (E 959) y neotame (E 961), están autorizados en la Unión Europea (UE), directiva 94/35 / CE (Comisión Europea, Directiva 94/35, 1994) con cuatro enmiendas (Comisión Europea, Directiva 96/83, 1997; Comisión Europea, Directiva 2003/115, 2004; Comisión Europea, Directiva 2006/52, 2006; Comisión Europea, Directiva 2009/163, 2009) para uso en la industria alimentaria moderna (Lorenzo et al, 2015). La producción y el consumo de edulcorantes en todo el mundo está en aumento (por ejemplo, aumentó más del 5% en los últimos años en los Estados Unidos) (Sylvetsky y Rother, 2016).

Cinco ENN están aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA): acesulfamo-K, aspartamo, neotamo, sacarina y sucralosa (Chang and Yeh, 2014; R.A. Lorenzo et al, 2015).

Las regulaciones de etiquetado vigentes en Europa especifican que la declaración de uso de los edulcorantes no calóricos es obligatoria en los paquetes de alimentos y bebidas (Drewnowski y Fulgoni III, 2008).

En Chile, el RSA en su artículo 146, indica en que alimentos está permitido el uso de edulcorantes. La Tabla 2, muestra los edulcorantes no nutritivos permitidos en la reglamentación nacional.

**Tabla 2.** Edulcorantes no nutritivos permitidos en Chile, artículo 146 del RSA.

N°SIN	Nombre	Sinónimo	IDA mg/kg peso corporal
950	Acesulfamo potásico	Acesulfamo K Acesulfamo de potasio	0 - 15
951	Aspartamo		0 - 40
952	Ácido ciclámico (y sales de sodio, potasio y calcio)	Ciclamatos de sodio, de potasio y de calcio Ácido ciclohexilsulfámico	0 - 7
954	Sacarina (sales de sodio, potasio y calcio)		0 – 5
955	Sucralosa	Triclorogalactosacarosa	0 – 15
956	Alitamo		0 – 1
961	Neotamo		0 – 2
960	Glicósidos de esteviol	Estevia, Extracto de Estevia, Estevia Rebaudiana, Esteviósido, Rebaudiosido A, Stevioside.	0 – 4 (expresado como esteviol)

Respecto del uso de ENN en el mundo, el ciclamato de sodio ha sido controversial en las últimas décadas, debido a sus posibles efectos cancerígenos. El ciclamato en sí mismo muestra una toxicidad muy baja, pero las bacterias intestinales lo metabolizan a ciclohexilamina, que muestra una mayor toxicidad. Estudios en ratas han demostrado que altas dosis de ciclohexilamina causan atrofia testicular, así como riesgos de cáncer de hígado (Zygler 2009, Renwick 2004). Debido a que la seguridad del ciclamato en humanos no se ha aclarado por completo, el nivel de contenido de este aditivo en los

alimentos es diferente entre naciones, así como su uso, países como Estados Unidos, India, Hong Kong y Reino Unido, han prohibido su uso como aditivo alimentario (Li et al, 2017).

Según la OMS la sacarina no se metaboliza y se sospecha que induce cáncer de vejiga en ratas macho, lo que no es relevante para humanos (OMS, 1993). Los estudios farmacocinéticos muestran que el acesulfamo de potasio se absorbe completamente, no se metaboliza y se excreta rápidamente sin cambios y no se asocian efectos adversos al acesulfamo (OMS, 1991). El aspartamo se metaboliza en el cuerpo en ácido aspártico, fenilalanina y metanol, y se sabe que un alto nivel de fenilalanina en plasma causa toxicidad en el desarrollo en humanos a personas con un trastorno metabólico hereditario llamado fenilcetonuria (Tighrine, 2019). Además, se pueden asociar otros efectos nocivos a los ENN con resultados negativos para la salud, como el riesgo de aumento de peso, síndrome metabólico, diabetes tipo 2, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Swithers-Susan, 2013). Por lo tanto, se debe controlar el uso de ENN en los alimentos.

Debido a que los ENN no se digieren en el intestino delgado y entran al intestino grueso, se han planteado preocupaciones sobre su impacto en la microbiota intestinal humana. Un estudio informó que el consumo de ENN en ratones y humanos aumentó el riesgo de intolerancia a la glucosa a través de la modulación tanto de la funcionalidad como de la composición de la microbiota intestinal (Suez et al., 2014).

En mayo de 2023 (OMS, 2023), la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó una directriz sobre ENN, en la que sugiere que los ENN, no se utilicen como medio para lograr el control de peso o reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles. Esta orientación no aplica para personas con diabetes preexistentes (tipo I y tipo II), y tampoco pretende ofrecer orientaciones actualizadas o alternativas sobre niveles seguros de ingesta, que es realizada por organizaciones autorizadas basada en evaluaciones toxicológicas, como es el Comité Conjunto de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)/OMS sobre Aditivos Alimentarios (JECFA).

En julio del 2023 (JECFA-FAO/OMS, 2023) la OMS publicó los resultados de estudios realizados por la CIIC y JECFA en torno a la seguridad del aspartamo. El CIIC clasificó al aspartamo en el Grupo 2B, “como posiblemente cancerígeno para los seres

humanos”, tras establecer que hay “evidencia limitada” sobre sus efectos carcinogénicos. Esto significa que el aspartamo se categorizó en un grupo en que existen pruebas limitadas de carcinogenicidad en humanos e insuficientes de carcinogenicidad en experimentación animal, o existen pruebas inadecuadas de carcinogenicidad en humanos, pero suficientes de carcinogenicidad en experimentación animal. Paralelamente, después de completar una evaluación de la exposición dietética, el JECFA concluyó que "la evidencia de una asociación entre el consumo de aspartamo y el cáncer en humanos no es convincente". Basándose en las estimaciones actuales de exposición dietética, el JECFA llegó a la conclusión de que la exposición dietética al aspartamo no plantea un problema de salud y confirmó el uso del valor de la IDA de 40 mg de aspartamo/kg de peso corporal como ingesta segura en términos de inocuidad (JECFA-FAO/OMS, 2023).

#### **1.6. Comité Conjunto de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)/OMS sobre Aditivos Alimentarios (JECFA) e ingesta diaria admisible (IDA).**

El Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios JECFA realiza la evaluación de riesgo de edulcorantes siguiendo un procedimiento científico que requiere experiencia en toxicología y nutrición (para la evaluación de la ingesta). El procedimiento consta de cuatro pasos: identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo (Mortensen, 2006).

Como resultado de la caracterización del peligro, se ha establecido una ingesta diaria admisible (IDA) para cada edulcorante. La IDA es la cantidad de aditivo alimentario, expresada en mg/kg de peso corporal, que se puede ingerir diariamente durante toda la vida sin incurrir en ningún riesgo apreciable para la salud.

JECFA caracterizó el riesgo de los ENN, estableciendo una ingesta diaria admisible de 15 mg/kg de peso corporal para el acesulfamo de potasio (ACE-K), 40 mg/kg de peso corporal para Aspartamo (ASP), 11 mg/kg de peso corporal para ciclamato de sodio (CYC), 5 mg/kg de peso corporal para sacarina (SAC), 2 mg/kg de peso corporal para neotame (NEO), 1mg/kg de peso corporal para alitamo (ALI) y 15 mg/kg de peso corporal para la sucralosa (SUC) (Chang and Yeh, 2014, Lim 2013). El Comité Científico de Alimentos en la Unión Europea (UE) estableció una IDA de 5 mg/kg de peso corporal

para la de neohesperidina dihidrocalcona (NHDC) (Mortensen, 2006). Por lo tanto, se considera seguro para el consumo humano, la ingesta de estos aditivos, si no supera las concentraciones definidas como IDA.

### **1.7. Evaluaciones de exposición a ENN en la población nacional e internacional a partir de ingesta diaria alimentaria en niños y adultos.**

Resultados de una evaluación de riesgo para la salud con respecto a la exposición a ENN por diversos grupos de edad, asumiendo el consumo de dos latas de refrescos de 330 mL en un día, utilizando el contenido más alto de cada ENN, encontraron que el grupo de rango etario de 4 a 8 años preocupa cada vez más, ya que, al consumir dos latas de refresco por día, podrían estar ingiriendo el 72,5% de la IDA para ciclamato y 59,5 % de la IDA para sucralosa. Dado que otros alimentos como el yogur, leche, galletas y los cereales para el desayuno también tienen edulcorantes en su composición, la IDA se puede superar fácilmente (Silva et al., 2020). Un estudio en niños con diabetes tipo 1 arrojó que en la categoría de 4 a 6 años una ingesta alta de alimentos con ENN supera la IDA para acesulfamo de potasio (211% de la IDA), ciclamato (214% de la IDA), sacarina (100% de la IDA) y glucósidos de esteviol (119% de la IDA), concluyendo como pauta dietética que un niño de 4 a 6 años puede consumir máximo un vaso de gaseosa dietética (150 ml), un vaso de bebidas lácteas y tres rebanadas de pan con producto para untar con edulcorantes al día (Dewinter et al., 2016).

Un estudio de niños chilenos de 6 a 14 años encontró que el consumo de edulcorantes como sucralosa, aspartamo, ciclamato, sacarina, acesulfamo de potasio y estevia no supera la Ingesta Diaria Admisible normada por la FAO/OMS y el Reglamento Sanitario de los alimentos de Chile. Sin embargo, el edulcorante que más se acerca al nivel máximo de IDA es el acesulfamo de potasio con un 92,6%, seguido por la sucralosa con 82,6% (Duran et al., 2011).

Debido a la seguridad del consumidor, es necesario controlar el contenido de ENN en los alimentos, sobre todo en los destinados a la población infantil que podría verse más afectada y superar la IDA establecida como segura.

### **1.8. Consumo habitual de alimentos en niños a nivel nacional**

Respecto a consumo habitual de alimentos en Chile, la Encuesta Nacional de Consumo Alimentario (ENCA), indica que el 98% de la población consume lácteos, llama la atención el alto consumo de lácteos medios en grasa y ricos en hidratos de carbono a toda edad, con un porcentaje que llega a 96% en los preescolares. Respecto de bebidas y refrescos, el 81% reportó consumo de bebidas y refrescos con azúcar. La proporción de consumo de estos productos es alto hasta los 49 años (80%) (ENCA, 2010).

El estudio de evaluación de exposición dietaria crónica a edulcorantes en alimentos consumidos por la población chilena realizado por ACHIPIA en Chile el año 2021 (ACHIPIA, 2021), revela que las categorías de alimento con mayor porcentaje de consumidores por grupo etario son, las bebidas de fantasía, el jugo en polvo, la leche líquida, el yogur con sabor. Los datos de la evaluación muestran que las bebidas de fantasía son consumidas por el 80% de los niños (3 a 9 años) y llama la atención que el 40% de los niños pequeños (de 2 años o menos de edad), también la consumen. Respecto a la categoría yogur con sabor el 44% de los niños pequeños consume yogur con sabor, y el porcentaje asciende al 88,5% en los niños entre 3 y 9 años de edad. En relación con el jugo en polvo, el 66,5% de los niños consume jugo en polvo y los niños de 2 años a menos de edad lo consumen en un 21,3%. En la categoría leche líquida, la consumen el 42,6% de los niños y el 13,5% de los niños pequeños. Por último, en la categoría jugo líquido envasado, lo consumen el 45,9% de los niños, y el 26,2% de los niños pequeños (ACHIPIA, 2021). Los antecedentes de consumo utilizados en esta evaluación fueron derivados de la Encuesta Nacional de Consumo Alimentario ENCA realizada en nuestro país el año 2010.

### **1.9. Validación de métodos analíticos**

La validación de metodologías analíticas tiene como objetivo garantizar que un método de análisis permite generar resultados confiables bajo las condiciones de trabajo disponibles en el laboratorio. La validación, además, se lleva a cabo para garantizar que cada medición futura en el análisis de rutina esté lo suficientemente cerca del valor verdadero desconocido (Raposo, 2020).

Un método debe validarse cuando sea necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para su uso con un propósito particular (Magnusson, 2014).

Por lo que, el laboratorio deberá validar cuando emplee:

- métodos no normalizados;
- métodos diseñados/desarrollados en el laboratorio;
- métodos normalizados utilizados fuera del alcance previsto.
- ampliaciones y modificaciones del método normalizado.

Los parámetros de validación clásicos son linealidad, límites de cuantificación y de detección, veracidad y precisión.

Respecto de la linealidad, en este parámetro se busca demostrar que el intervalo seleccionado es el adecuado, así como demostrar que el modelo de regresión seleccionado se ajusta de manera adecuada a los datos, permitiendo una adecuada predicción del comportamiento de los resultados experimentales (Ahumada, 2023). El límite de detección (LD) corresponde a la más baja concentración de analito que puede ser detectada. La estimación de este parámetro es especialmente importante cuando se deben distinguir cantidades traza de analito (Taverniers, 2004, Raposo, 2020). El límite de cuantificación se define como la cantidad o concentración más baja de analito que se puede determinar con un nivel aceptable de precisión y exactitud. La veracidad es una expresión de qué tan cerca está la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) del valor verdadero. La veracidad se expresa en términos de sesgo y recuperación (Ahumada, 2023). La precisión es definida por la FDA como la cercanía del acuerdo entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones específicas. La precisión se puede clasificar además como repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad (FDA, 2019).

El proceso de validación, genera información que permite establecer las limitaciones de un método analítico, por ejemplo, para conocer a que matrices no es aplicable o a partir de que niveles de concentración ya no produce resultados confiables.

#### **1.10. Metodologías analíticas para la determinación cuantitativa de ENN**

Existen diversos métodos instrumentales reportados para determinar edulcorantes no nutritivos en diversas matrices alimentarias. Uno de ellos es la cromatografía en capa fina (TLC) y en capa fina reversa (RP-TLC) que han sido utilizadas para determinar ENN

en caramelos, bebidas y jaleas (Jinadasa, 2023), estas técnicas si bien poseen la ventaja de que son fáciles y rápidos de operar, no se pueden aplicar a edulcorantes con propiedades cromóforas débiles, además presentan otras desventajas como la falta de especificidad (Cheng,2024). Se ha utilizado la cromatografía de gases (GC), con detectores de llama (GC-FID) y de captura electrónica (GC-ECD) para la determinación de edulcorantes, sin embargo, es necesario derivatizar los edulcorantes para su determinación, lo que dificulta la identificación (Yu, 2012). Las técnicas antes mencionadas son adecuadas simplemente para la determinación de un compuesto o mezclas simples de edulcorantes debido a la limitación de los detectores (Li, 2021). El uso de técnicas más eficientes resulta necesario para la determinación simultánea de ENN en matrices complejas. El uso del HPLC es la técnica más frecuentemente utilizada para el análisis de ENN (Oktavirina, 2021), con diferentes detectores como ultravioleta y fluorescencia. A pesar de que el uso de HPLC puede ser útil para mediciones de edulcorantes, puede producir falsos positivos, se ha encontrado interferencias para el análisis de acesulfamo K en muestras de chocolate (Jinadasa, 2023). Para el caso del uso de HPLC-UV, el análisis de ciclamato y sucralosa, al no poseer grupos cromóforos, requieren de pasos previos para su determinación, con reactivos de derivatización antes de la inyección en HPLC, lo que dificulta la determinación, con pasos de procesamiento más complejos y que requieren más tiempo de análisis (Soyseven, 2023, Oktavirina, 2021, Idris 2010, Yu, 2012, Zygler 2009).

Con el tiempo se han empleado técnicas instrumentales más sensibles con el uso de espectrometría de masas como es el caso del uso del HPLC-MS y GC-MS (Chen, 2023). Estos métodos no son adecuados para la detección simultánea de una gran cantidad de antioxidantes, conservantes y edulcorantes sintéticos porque los múltiples isómeros y análogos estructurales de los analitos son difíciles de separar lo que dificulta el análisis (Jia, 2014). Los analizadores MS/MS vienen a resolver los problemas de interferentes y a facilitar la determinación simultánea de edulcorantes en matrices complejas. Los analizadores MS/MS han facilitado la selección de iones precursores, la fragmentación de ese ion y la medición de la relación  $m/z$  de los iones producto formados (Jinadasa, 2023). En uso de HPLC-MS/MS, se eligen múltiples pares de iones para mejorar la sensibilidad, porque el espectro de masas responde a la acumulación de señales en el modo monitoreo de reacciones múltiples (MRM). El modo MRM puede proporcionar

resultados confirmativos y con una mayor sensibilidad que los métodos HPLC-MS (Li, 2021). Por lo tanto, el uso de cromatografía líquida / espectrometría en masas en tándem (HPLC-MS/MS) se ha convertido en una herramienta cada vez más necesaria para la detección simultánea de edulcorantes en alimentos.

En la realización de esta tesis se utilizó un HPLC-MS/MS, para la validación y determinación de aspartamo, acesulfamo de potasio, sucralosa, ciclamato de sodio y sacarina en leches chocolatadas y néctares de manzana.

“Esta investigación utilizó información obtenida desde el Instituto de Salud Pública de Chile. El autor agradece al Instituto de Salud Pública de Chile haberle permitido disponer de estos datos. Todos los resultados del estudio son de responsabilidad del autor y en nada comprometen a dicho Instituto”.

## **II. HIPÓTESIS**

Dado los antecedentes bibliográficos expuestos, y que la inclusión de edulcorantes no nutritivos en alimentos consumidos por niños de 2 a 9 años ha ido en aumento en los últimos años, pudiendo superar la IDA, se hace necesario contar con herramientas validadas para una mayor regulación de los ENN especialmente en productos destinados a niños menores 9 años de edad. De acuerdo a esta premisa, la hipótesis de esta investigación es la siguiente: Es posible desarrollar una metodología validada para la identificación y cuantificación de edulcorantes no nutritivos en matrices de leche y néctares destinados al consumo infantil, que permita verificar el cumplimiento de las normativas nacional e internacional. Se espera según antecedentes bibliográficos, que los niños entre las edades de 2 a 9 años superen la IDA establecida como segura al consumir más de un producto con edulcorantes no nutritivos.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general.**

Determinar los edulcorantes no nutritivos contenidos en alimentos destinados al consumo infantil, específicamente leche y jugo, aplicando una metodología validada por HPLC-MS/MS. Determinar, además, si estos alimentos cumplen con la reglamentación vigente nacional e internacional y si su uso es seguro para el grupo etario entre los 2 y los 9 años de edad.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- 3.2.1 Validar una metodología para la determinación de acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina y sucralosa, por HPLC-MS/MS en matrices de leche y jugo.
- 3.2.2 Realizar análisis de muestras de leches y jugos en formato individual endulzados con edulcorantes no nutritivos, disponibles en supermercados de dos comunas de la Región Metropolitana
- 3.2.3 Realizar contrastación de los contenidos de ENN determinados analíticamente con la declaración en el etiquetado del producto y verificar el cumplimiento de la reglamentación nacional e internacional.
- 3.2.4 Realizar una simulación de evaluación de ingesta de ENN en niños de 2 a 9 años a través de productos de mayor frecuencia de consumo y que contengan estos aditivos en su lista de ingredientes. Contrastación de los resultados con la IDA.
- 3.2.5 Calcular la máxima cantidad de porciones que pueden consumir por día los niños pequeños y niños, de las matrices analizadas en el laboratorio y del estudio de rótulo en el supermercado.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta etapa del protocolo se realizó en el Laboratorio de Nutrientes Aditivos y Contaminantes de la Sección Química de Alimentos del Departamento Nacional y de Referencia en Salud Ambiental del Instituto de Salud Pública de Chile.

### 4.1. Reactivos

- 4.1.1 Agua HPLC
- 4.1.2 Metanol HPLC.
- 4.1.3 Acetonitrilo HPLC.
- 4.1.4 Isopropanol al 10%.
- 4.1.5 Hexacianoferrato de potasio trihidratado.
- 4.1.6 Sulfato de zinc heptahidratado.
- 4.1.7 Acetato de amonio.

### 4.2. Estándares

- 4.2.1. Sucralosa, marca HPC standards gmbh, lote 785251 y 806624, pureza 99,6%.
- 4.2.2. Acesulfamo de potasio, marca Chromadex, lote 00001033-888, pureza 99,9%.
- 4.2.3. Sacarina sódica, marca Supelco, lote LRAC5768, pureza 99,10%.
- 4.2.4. Ciclamato de sodio, marca Supelco, lote LRAD2473, pureza 100%.
- 4.2.5. Aspartamo, marca Supelco, lote LRAC7356, pureza 98,5 %.
- 4.2.6. Sucralosa-d6, marca TRC, lote 10-AKS-63-2, pureza 99,8%.

### 4.3. Equipos utilizados

- 4.3.1. HPLC-MS/MS, modelo SCIEX TRIPLE QUAD 6500
- 4.3.2. Balanza analítica Metler Toledo, modelo AB-104-3.
- 4.3.3. Sistema de filtración al vacío, para fase móvil.

### 4.4. Materiales.

- 4.4.1. Matraz de aforo de 100 mL.
- 4.4.2. Micropipetas de 200  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L
- 4.4.3. Espátula para masar

- 4.4.4. Navecillas
- 4.4.5. Filtros de papel whatman grado 1, círculos de 110 mm.
- 4.4.6. Tubos eppendorf de 2 mL.
- 4.4.7. Matraz de aforo de 10 mL.
- 4.4.8. Filtros de jeringa PTFE 0,45 µm, 30 mm.
- 4.4.9. Columna HPLC C18, marca sunfire, 3,1 µm, 2,1 x 150 mm.
- 4.4.10. Matraz de aforo de 1 y 2 L.

#### **4.5. Soluciones**

Solución de carrez I. Se pesó 36 g de hexacianoferrato de potasio trihidratado diluido a 1 litro.

Solución de carrez II. Se pesó 72 g de sulfato de zinc heptahidratado diluido a 1 litro.

Fase móvil: Se preparó 1 litro de 5 mmol/L de acetato de amonio en agua (canal A) y 1 litro de 5 mmol/L de acetato de amonio en metanol (canal B).

#### **4.6. HPLC-MS/MS**

Se utilizó un cromatógrafo líquido HPLC marca Shimadzu, el cual opera con una bomba cuaternaria. El HPLC está acoplado a un detector MS/MS marca Sciex, modelo triple cuadrupolo 6500 QTRAP

#### **4.7. Caracterización cromatográfica mediante HPLC-MS/MS.**

Para la caracterización cromatográfica se usó un estándar de cada edulcorante en estudio; acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina y sucralosa, además se utilizó sucralosa-d6 como estándar subrogante en concentración de 10 µg/L. Las soluciones independientes se inyectaron en el instrumento para optimizar sus condiciones tanto cromatográficas como espectroscópicas, para esto se realizó una búsqueda bibliográfica de los parámetros de HPLC y MS/MS, esto es, fase móvil, columna cromatográfica, iones precursores, productos, energía de fragmentación, energía de colisión y polaridad, entre otros; esta información sirvió de guía para la identificación de cada analito, pues, el instrumento realiza la optimización de las

energías de manera automática. Luego con las condiciones establecidas se inyectó un multi estándar para evaluar la separación cromatográfica.

#### **4.8. Extracción de edulcorantes**

##### **Matriz leche líquida chocolatada**

Se tomó 1 mL de muestra previamente homogenizada y se colocó en un matraz de aforo de 100 mL. Luego se agregaron aproximadamente 40 mL de agua desionizada y de manera consecutiva se agregaron 2 mL de solución de carrez I y 2 mL de solución de carrez II. Se Aforó con agua desionizada y luego se agitó el matraz y se dejó reposar por 15 minutos. Cumplido el tiempo, la muestra se filtró, usando filtros de papel whatman grado 1 y 0,5 mL del filtrado se llevó a un tubo eppendorf, al que se le agregó 1 mL de agua desionizada. De la dilución anterior se tomó 1 mL y se llevó a un matraz aforado de 10 mL, aforando con fase móvil 50:50 (acetato de amonio en agua 5mmol/L: acetato de amonio en metanol 5 mmol/L). Finalmente, se filtró 1 mL con filtro de jeringa de PTFE y se colocaron en un vial de inyección para HPLC.

##### **Matriz néctar de fruta**

Se tomó 1 mL de muestra previamente homogenizada y se colocó en un matraz de aforo de 100 mL. Luego se aforó con agua desionizada. Se tomaron 0,5 mL en un tubo eppendorff y se agregó 1 mL de agua desionizada, para luego homogenizar. Se tomó 1 mL y se colocó en un matraz de aforo de 10 mL, aforando con fase móvil 50:50 (acetato de amonio en agua 5mmol/L: acetato de amonio en metanol 5 mmol/L). Finalmente, se filtró con filtro de jeringa PTFE y se colocó en un vial de inyección para HPLC.

#### **4.9. Muestras.**

Se obtuvieron muestras de néctares de frutas y leches líquidas a partir del stock disponible en supermercados entre los meses de junio y julio del 2023. Se determinó la adquisición de los formatos disponibles para el consumo de niños y que consideraran ENN en su lista de ingredientes. Además, se consideró la compra de productos de estas

categorías que no rotularan ENN para realizar la validación, utilizándolos como blanco matriz (ver anexo 1, fotos de néctares y leches líquidas).

#### **4.10. Validación de acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina y sucralosa en matrices de leche y jugo, mediante HPLC-MS/MS.**

##### **Linealidad**

Se evaluó la curva por medio del método del estándar externo (en solvente, correspondiente a fase móvil) para determinar la concentración máxima en que se conserva el comportamiento lineal a lo largo del intervalo de interés. Se graficó respuesta (Y) versus concentración (X) y se examinó visualmente el intervalo lineal aproximado y el límite inferior y superior del intervalo de trabajo. Esto permitió una confirmación visual de la linealidad del intervalo instrumental.

Definidos los puntos de curva para los ENN, se evaluó el efecto matriz.

##### **Evaluación de efecto matriz:**

Para el estudio de efecto matriz, se realizó extracción de muestras blancos de leche y jugo, las cuales no contienen edulcorantes en su rotulación. Estas matrices se sometieron a extracción, de acuerdo al punto 4.6. Luego, se prepararon los puntos de curva antes definidos por el estudio de curva en solvente y se aforan con los extractos de las muestras blanco, que contienen la matriz. Se inyectó una curva de calibrado de cada analito preparada en solvente y una curva de calibrado preparada con los extractos (curva de calibrado en matriz).

Se evaluó el efecto matriz (EM) de acuerdo a guía SANTE, comparando las pendientes (b) de la curva en solvente y la curva en matriz como se indica en la ecuación:

$$EM = \left( \frac{b_{Matriz}}{b_{Solvente}} * 100 \right) - 100$$

Si el efecto matriz es negativo, indica una supresión de la señal, en tanto que un efecto matriz positivo es indicativo de una sobrestimación de la señal. El efecto matriz debe ser inferior a  $\pm 20\%$  para poder utilizar una curva de calibración externa (en solvente). En caso de presentarse efecto matriz, la evaluación de linealidad será realizada con matriz en lugar de solvente.

Para continuar evaluando la linealidad, se realizaron 10 curvas en días distintos y con distintos y/o mismo analista, en matriz o solvente según resultado de evaluación de efecto matriz. Las concentraciones seleccionadas consideraron estar separadas de manera equidistante a través del rango de concentración estudiado. Se consideraron al menos 6 niveles de concentración a lo largo del intervalo lineal definido anteriormente. El criterio de evaluación utilizado correspondió a un valor de coeficiente de determinación  $\geq 0,990$ , para cada una de las curvas.

### **Límites de cuantificación y detección**

Como la reglamentación nacional actual no indica límite máximo permitido (LMP) en alimentos para ENN, se utilizó información internacional, en este caso se usó el Codex como referencia para los LMP, Tabla 3.

**Tabla 3.** Límites máximos permitidos, según Codex Alimentarius

Matriz	Analito	LMP (ppm)
<b>Bebidas lácteas (leche)</b>	ASP	600
	ACS-K	350
	CYC	250
	SAC	80
	SUC	300
<b>Néctares de fruta (jugo)</b>	ASP	600
	ACS-K	350
	CYC	400
	SAC	80
	SUC	300

Se utilizó matriz blanco de leche y néctares de fruta fortificadas al nivel más bajo de la curva para calcular los límites, los criterios de evaluación fueron los del Codex Alimentarius, según la siguiente tabla.

**Tabla 4.** Criterios para límites según Codex Alimentarius.

Parámetro	Criterios	Referencia
<b>Límites de detección (LD)</b>	Respecto a un LMP $\geq 0,1$ mg/kg $LD \leq LMP * 1/10$ Respecto a un LMP $< 0,1$ mg/kg $LD \leq LMP * 1/5$	Codex Alimentarius
<b>Límite de cuantificación (LC)</b>	Respecto a un LMP $\geq 0,1$ mg/kg $LC \leq LMP * 1/5$ Respecto a un LMP $< 0,1$ mg/kg $LC \leq LMP * 2/5$	Codex Alimentarius

De la Tabla 3, se obtienen los LMP según Codex, y se puede calcular el LD y LC esperados de acuerdo a los criterios de la Tabla 4, de la siguiente manera.

Matriz leche:

**Tabla 5.** Cálculo de LD y LC esperado para la matriz leche.

Analito	LMP	LD	LC
<b>ACS-K</b>	350 mg/kg	$LD \leq 35$ mg/kg	$LC \leq 70$ mg/kg
<b>ASP</b>	600 mg/kg	$LD \leq 60$ mg/kg	$LC \leq 120$ mg/kg
<b>CYC</b>	250 mg/kg	$LD \leq 25$ mg/kg	$LC \leq 50$ mg/kg
<b>SAC</b>	80 mg/kg	$LD \leq 8$ mg/kg	$LC \leq 16$ mg/kg
<b>SUC</b>	300 mg/kg	$LD \leq 30$ mg/kg	$LC \leq 60$ mg/kg

Matriz néctar de fruta:

**Tabla 6.** Cálculo de LD y LC esperado para la matriz jugo.

<i>Analito</i>	<i>LMP</i>	<i>LD</i>	<i>LC</i>
<b>ACS-K</b>	350 mg/kg	$LD \leq 35 \text{ mg/kg}$	$LC \leq 70 \text{ mg/kg}$
<b>ASP</b>	600 mg/kg	$LD \leq 60 \text{ mg/kg}$	$LC \leq 120 \text{ mg/kg}$
<b>CYC</b>	400 mg/kg	$LD \leq 40 \text{ mg/kg}$	$LC \leq 80 \text{ mg/kg}$
<b>SAC</b>	80 mg/kg	$LD \leq 8 \text{ mg/kg}$	$LC \leq 16 \text{ mg/kg}$
<b>SUC</b>	300 mg/kg	$LD \leq 30 \text{ mg/kg}$	$LC \leq 60 \text{ mg/kg}$

Para el estudio de límites se fortificó la matriz blanco con los edulcorantes en estudio al nivel más bajo de la curva (según estudio de linealidad), se realizaron 10 extracciones de cada matriz y se corroboró que se cumpliera el criterio establecido en las Tablas 5 y 6.

Para realizar los cálculos, se multiplicó la desviación estándar (DS) de los datos de concentración obtenidos de las 10 extracciones de cada matriz por 3 para el límite de detección y por 10 para el límite de cuantificación, como se muestra a continuación:

$$LD = 3 * DS \quad LC = 10 * DS$$

### **Exactitud**

Para el estudio de la veracidad se evaluó el porcentaje de recuperación de las muestras blanco fortificadas a nivel bajo y medio de la curva de calibración bajo condiciones de repetibilidad. Se evaluó el porcentaje de recuperación según la Tabla de criterios AOAC (Tabla 7). El porcentaje de recuperación se obtuvo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{CF - CV}{CA} * 100$$

Donde:

%R: Porcentaje de recuperación.

CF: Concentración de analito cuantificado en muestra fortificada.

CV: Concentración de analito cuantificado en muestra sin fortificar.

CA: Concentración analito adicionado.

**Tabla 7.** Criterios AOAC para la recuperación según concentración.

% Analito	Unidad	Promedio de recuperación %
100	100%	98 - 102
10	10%	98 - 102
1	1%	97 - 103
0,1	0,1%	95 - 105
0,01	100 ppm (mg/kg)	90 - 107
0,001	10 ppm (mg/kg)	80 - 110
0,0001	1 ppm (mg/kg)	80 - 110
0,00001	100 ppb (µg/kg)	80 - 110
0,000001	10 ppb (µg/kg)	60 - 115
0,0000001	1 ppb (µg/kg)	40 - 120

### **Precisión**

La precisión se estableció en términos de repetibilidad y precisión intermedia.

#### Repetibilidad

Para el estudio de repetibilidad se realizaron seis determinaciones en un mismo día y por el mismo analista de las muestras blanco de cada matiz fortificadas a nivel bajo y medio de la curva de calibración. Se comparó el Coeficiente de Variación (CV) y CV de Horwitz, y se analizó que se cumpliera el siguiente criterio de aceptación:

$$CV \% < CV\% \text{ de Horwitz}$$

### Precisión intermedia

Para la precisión intermedia, se realizaron seis determinaciones de la muestra blanco fortificada a nivel medio y bajo de la curva de calibración, por analistas distintos en dos días diferentes. Y se evaluaron con el mismo criterio antes descrito en la repetibilidad, esto es, que se cumpla el criterio del  $CV \% < CV\%$  de Horwitz

### Incertidumbre

Se realizó la estimación de la incertidumbre por medio de los datos derivados de la validación utilizando el enfoque descendente o también conocido como caja negra.

#### **4.11. Análisis muestras de supermercados de leches y néctares de fruta endulzados con edulcorantes no nutritivos.**

Para llevar a cabo este punto respecto a néctares de fruta se realizó un estudio de disponibilidad en diversos supermercados ubicados en las comunas de Ñuñoa y Curacavi (Líder, Jumbo, Unimarc, aCuenta y Santa Isabel) encontrando las mismas marcas de néctares de fruta con edulcorantes, respecto a néctares 100% fruta o sin edulcorantes añadidos, que sirieron para matriz blanco 4 de los 5 supermercados revisados (Santa Isabel, Jumbo, Unimarc y Lider) contenían este tipo de productos. Del estudio de supermercado se encontraron cinco marcas de néctares y se logró muestrear las 5 marcas en formato individual (200cc), en los supermercados antes nombrados, de cada marca se seleccionaron tres unidades de distinto lote, de modo de establecer el comportamiento de la producción de la marca. De los tres productos de distinto lote por matriz se hizo una muestra compuesta y se analizaron las muestras por duplicado. Se seleccionó el sabor manzana para todas las marcas muestreadas.

En el caso de leches líquidas se realizó un estudio de disponibilidad en los mismos supermercados mencionados anteriormente encontrando las mismas marcas de leche con edulcorantes en los cuatro supermercados indicados para los néctares. Se encontraron siete marcas de leches líquidas, las cuales en su lista de ingredientes indicaron ser leche semidescremada o parcialmente descremada. Al momento del

muestreo se encontraron cinco marcas de leche líquida en formato individual (200cc) y semidescremada o parcialmente descremada; de cada marca se seleccionaron tres muestras de distinto lote, de modo de establecer el comportamiento de la producción. De los tres productos de distinto lote por matriz se hizo una muestra compuesta y se analizó por duplicado. Se seleccionó el sabor leche chocolatada.

Para las matrices blanco se seleccionó en formato de litro, néctar 100% fruta o sin edulcorantes añadidos, se seleccionó una marca 100% fruta y que en su lista de ingredientes rotula solo agua y fruta, se seleccionó el sabor manzana; esta muestra fue utilizada tanto para la validación como para los fortificados en el análisis de las muestras con edulcorantes en su rotulación. Para la leche se seleccionó leche semidescremada sin edulcorantes sabor chocolate, la única marca chocolatada que no posee edulcorantes en su lista de ingredientes es la leche Colun Original, la cual fue utilizada en el estudio de validación y para los controles fortificados en el análisis de las muestras con edulcorantes.

#### **4.12. Contrastación de los ENN encontrados cromatográficamente en cuanto a la declaración en el producto y cumplimiento con la reglamentación nacional e internacional utilizada.**

Mediante la metodología planteada, se analizó si lo declarado en el rótulo para cada matriz en estudio y cada marca analizada correspondió a lo encontrado cromatográficamente y que la concentración encontrada coincidiera con la declarada en el producto. Además, con los datos obtenidos se evaluó cumplimiento con lo permitido por el Reglamento Sanitario de los Alimentos para el uso de estos aditivos alimentarios y con el Codex Alimentarius respecto de lo establecido en la Norma General de Aditivos.

#### **4.13. Evaluación de ingesta de ENN en niños de 2 a 9 años y determinación de eventual superación de la IDA establecida como segura al consumir productos que contengan estos aditivos en su lista de ingredientes.**

Se realizó una evaluación de exposición dietaria a acesulfamo de potasio, sacarina, ciclamato de sodio, sucralosa y aspartamo, mediante el método de estimación puntual

(Risk Assessment, 2008) considerando los datos de concentración obtenidos en el laboratorio y los datos de consumo dietario en néctares de fruta o jugo líquido envasado y leche saborizada para niños pequeños de hasta 2 años inclusive y de niños de 3 a 9 años, obtenidos del estudio de ACHIPIA, 2021 (ACHIPIA, 2021). Se establece el escenario de exposición más pesimista, en el que se selecciona por marca de producto la concentración más alta del edulcorante en estudio, de manera de evaluar la potencial mayor exposición en niños pequeños y niños. Este escenario representa a consumidores altamente expuestos a ENN, como son, por ejemplo, consumidores que son fieles a una marca o un producto específico.

El peso corporal promedio se obtuvo a partir de datos extraídos del estudio de ACHIPIA, que a su vez se basó a partir de datos ENCA 2010, considerándose 14 kg y 27 kg para el grupo etario de niños pequeños y de niños, respectivamente.

Adicionalmente, se realizó una evaluación teórica con datos de estudio de supermercado, para matrices, cereal, barras de cereal, galletas, jugos en polvo, bebidas gasificadas y yogurt, para evaluar la exposición y el riesgo ampliando las matrices de estudio. Con los datos de concentración declarados se realizó la estimación de exposición y riesgo, de la misma forma que para las matrices validadas en esta tesis.

#### **4.14. Cálculo de máxima cantidad de porciones que pueden consumir por día los niños pequeños y los niños, de las matrices analizadas en el laboratorio y del estudio de rótulo en el supermercado.**

Se calculó la cantidad máxima por porción que podrían consumir al día los niños pequeños de 2 años y los niños de 3 a 9 años sin superar la IDA de cada aditivo. Para este cálculo se utilizó la concentración de cada edulcorante en los productos tanto analizados en el laboratorio, como las del estudio de supermercado, para estas últimas se utiliza la concentración de edulcorante que aparece en el rótulo del envase, al no ser estas matrices analizadas en el laboratorio. Para el cálculo se utilizó la concentración máxima de edulcorante por matriz, de manera de seleccionar por marca de producto la concentración más alta. Se utilizó también, los pesos corporales promedios extraídos del estudio ACHIPIA y los valores de IDA de cada edulcorante.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Caracterización cromatográfica mediante HPLC-MS/MS.

#### 5.1.1 Condiciones optimizadas para el HPLC.

Se realizó la optimización de las condiciones del HPLC, mediante revisión bibliográfica. Para la separación cromatográfica se utilizó una columna Sunfire C18 (3,5µm, 2,1 x 150 mm) marca Waters, la temperatura del horno a 35° C, volumen de inyección 5 µL y flujo de 0,3 ml/min. La fase móvil fue agua con 5 mmol/ L de acetato de amonio (canal A) y metanol con 5 mmol/ L de acetato de amonio (canal B). Se realizó la separación en gradiente (ver Tabla 8).

#### 5.1.2 Condiciones optimizadas para el MS/MS.

Se realizó una optimización guiada para el MS/MS, utilizando el método MRM (Monitoring reaction multiple). A partir de una revisión bibliográfica se obtuvo el ion precursor y polaridad, y se determinó el número de fragmentos o iones producto a encontrar por el instrumento. Posteriormente se optimizaron las energías DP (Declustering potencial), CE (Colission energy) y CXC (Colission cell exit potencial). Los parámetros optimizados se muestran en la Tabla 9.

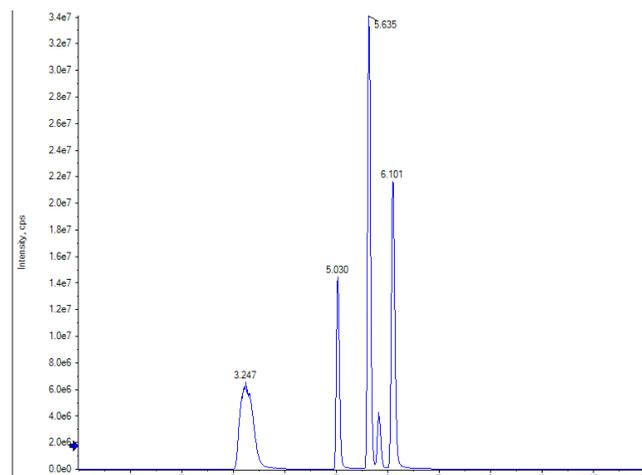
Con las condiciones optimizadas del MS/MS y del HPLC se inyectó un multiestándar que se muestra en la Figura 2, respecto de sucralosa-d6 su señal cromatográfica se muestra en la Figura 3. Se muestra, además, los cromatogramas de muestra leche chocolatada (Figura 4) y de muestra jugo de manzana (Figura 5), ambos fortificados a 100 ppb con edulcorantes no nutritivos.

**Tabla 8.** Programa de gradiente de la fase móvil para separación por HPLC de los edulcorantes en estudio.

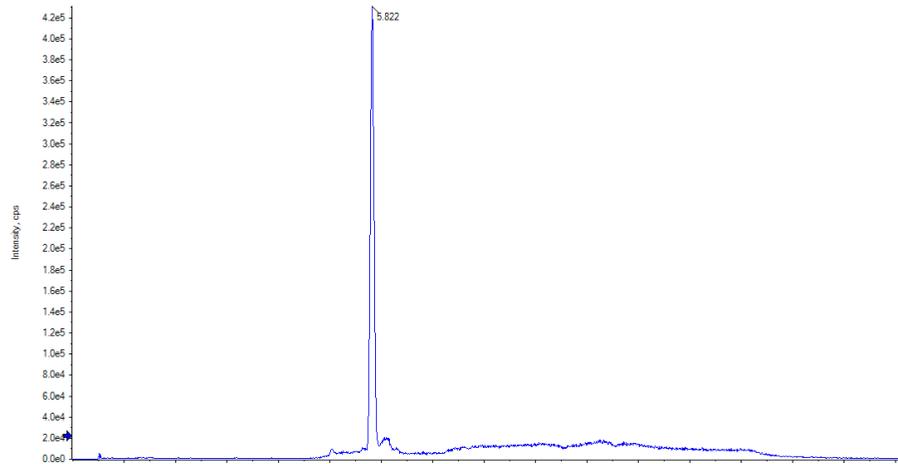
Tiempo	Flujo mL/min	% A	% B
0	0,3	90	10
1		90	10
1,5		50	50
9,0		10	90
12,0		90	10
20,0		90	10

**Tabla 9.** Condiciones optimizadas para los analitos seccionados mediante HPLC-MS/MS.

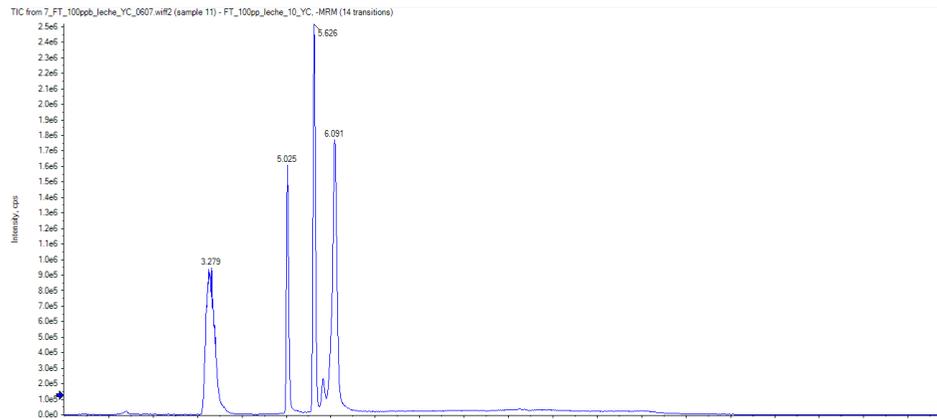
Compuesto	Tiempo de retención (min)	Q1 masa (Da)	Q3 masa (Da)	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
Acesulfamo K	3,2	161,788	81,906	30	-30,0	-10	-19,0	-5,0
			77,923		-30,0		-41,0	-5,0
Sacarina	5,0	181,653	42,004		-35,0		-43,0	-12,0
			106,000		-35,0		-25,0	-12,0
Ciclamato	5,6	177,900	79,900		-30,0		-35,0	-9,0
			81,000		-30,0		-28,0	-12,0
Sucralosa	5,8	394,839	35,046		-30,0		-48,0	-9,0
			359,111		-30,0		-18,0	-6,0
Sucralosa-d6	5,8	400,950	365,000		-30,0		-16,0	-16,0
			35,000		-30,0		-27,0	-13,0
Aspartamo	6,1	293,085	261,072	-25,0	-15,0	-15,0		
			200,077	-25,0	-20,0	-16,0		



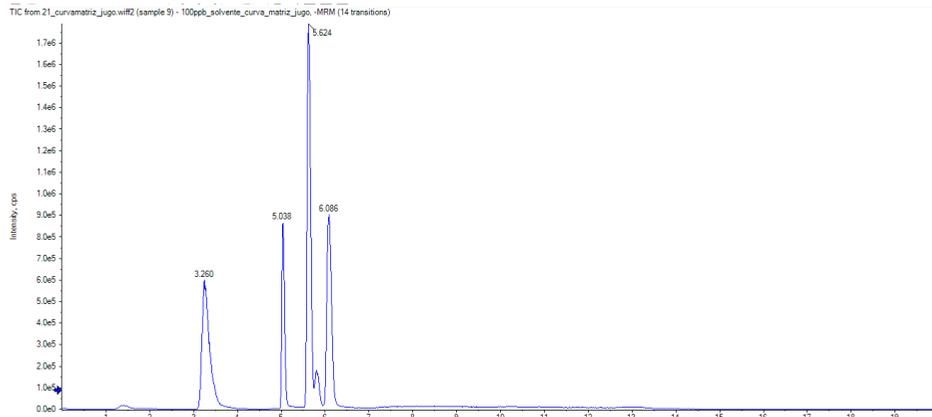
**Figura 2.** Separación cromatográfica de ACE-K, SAC, CYC, SUC y ASP en solvente.



**Figura 3.** Señal cromatográfica de SUC-d6 en solvente.



**Figura 4.** Separación cromatográfica de ACE-K, SAC, CYC, SUC y ASP en matriz leche chocolatada fortificada a 100 ppb.

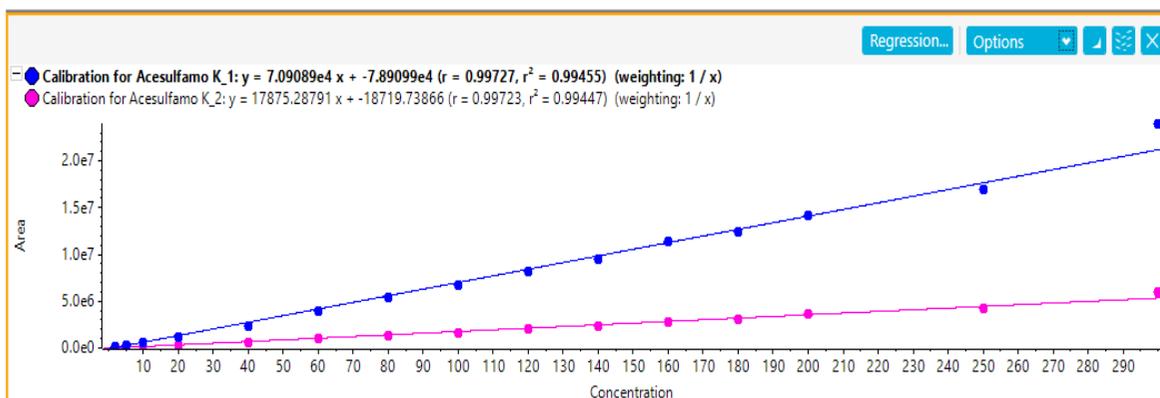


**Figura 5.** Separación cromatográfica de ACE-K, SAC, CYC, SUC y ASP en matriz jugo líquido de manzana fortificada a 100 ppb.

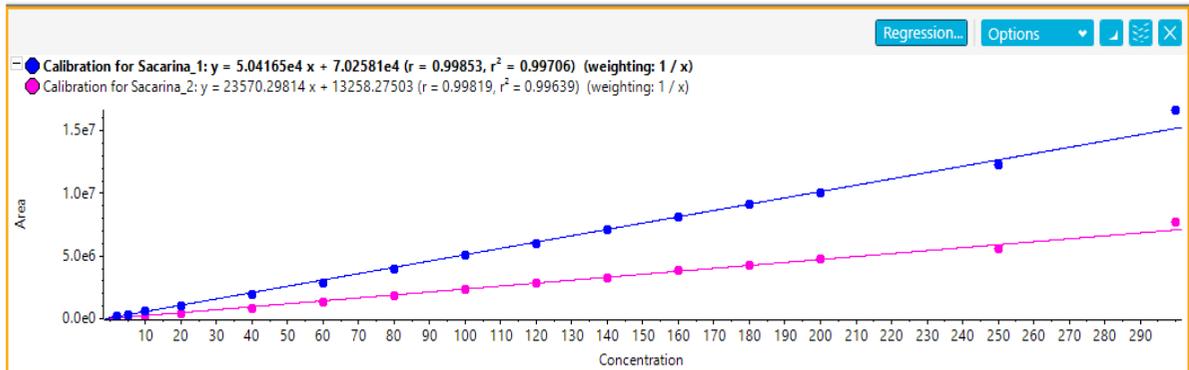
## 5.2. Validación de la metodología para la determinación de acesulfamo de potasio, aspartamo, ciclamato de sodio, sacarina, sucralosa, por HPLC-MS/MS en matrices de leche y jugo.

### 5.2.1. Linealidad

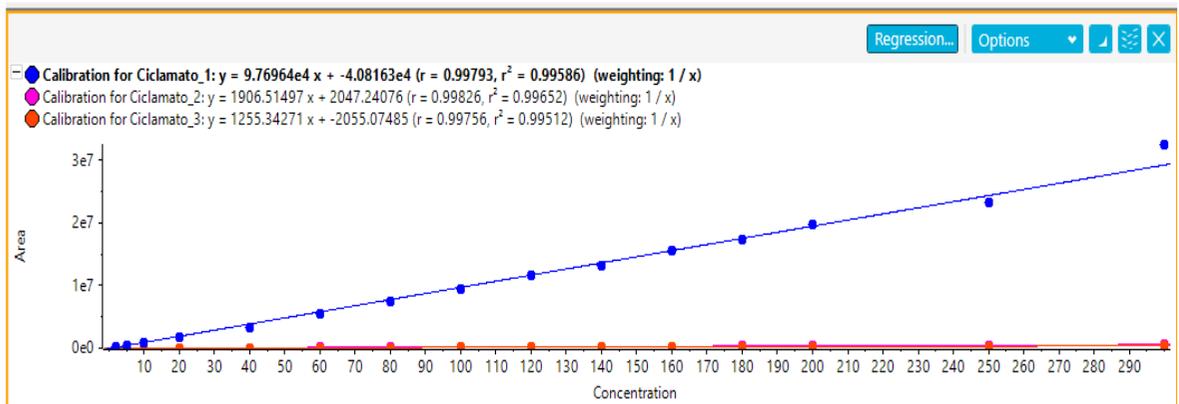
Para el estudio de linealidad, se realizó una curva en solvente (fase móvil 50:50) en un intervalo amplio de trabajo, desde 2 µg/L hasta 300 µg/L de ACE-K, SAC, CYC, SUC y ASP, de manera de poder evaluar visualmente la linealidad de la curva y así poder decidir el intervalo de trabajo. Las curvas obtenidas se muestran en las figuras 6 a la 10 a continuación.



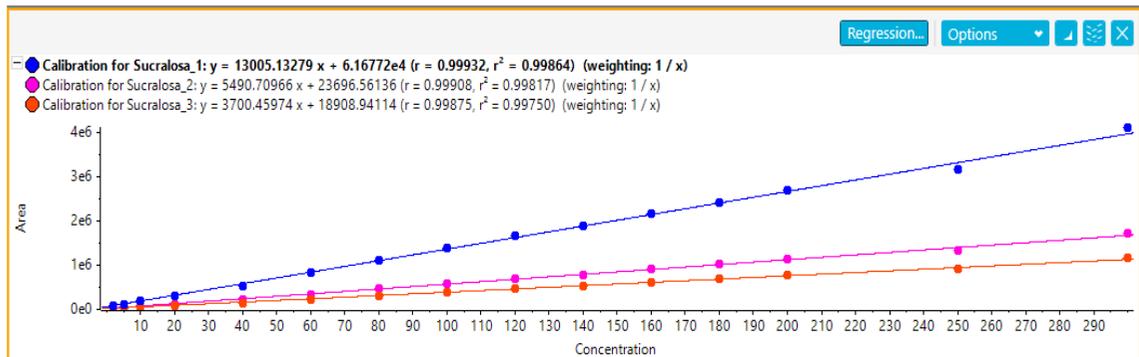
**Figura 6.** Curva Acesulfamo-K desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.



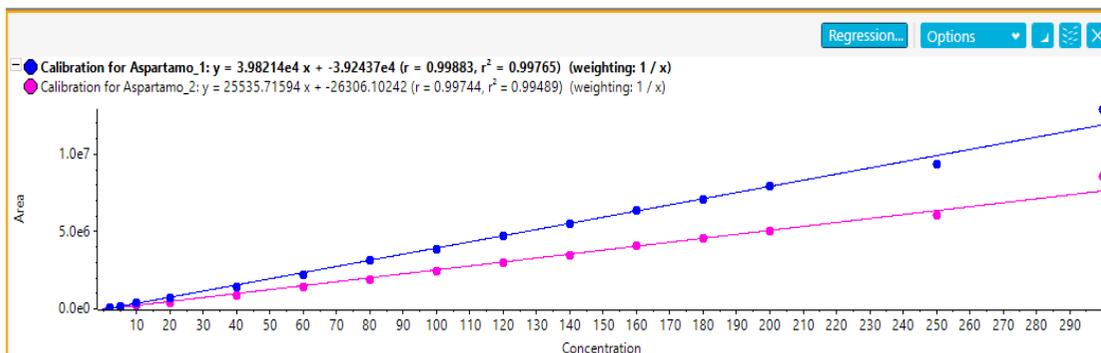
**Figura 7.** Curva Sacarina desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.



**Figura 8.** Curva Ciclamato desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada ion cualificador.



**Figura 9.** Curva Sucralosa desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada y roja ion cualificador.



**Figura 10.** Curva Aspartamo desde 2 µg/L hasta 300 µg/L, línea azul ion de cuantificación y línea rosada y rosada ion cualificador.

Los coeficientes de determinación obtenidos a partir de las curvas estudiadas fueron de 0,994 para el ACE-K, 0,997 para la SAC, 0,995 para el CYC, 0,998 para la SUC, y de 0,997 para el ASP, valores que cumplen con la aceptabilidad para el coeficiente de determinación establecido ( $\geq 0,990$ ). No obstante, de las figuras 6 a la 10 se puede inferir que hasta el punto 200 µg/L la curva se observa lineal, a partir del punto 250 µg/L se observa una evidente variación en el comportamiento de la curva, por lo que, se decide dejar como punto máximo de curva 200 µg/L. Respecto del punto más bajo de la curva, se analizaron los porcentajes de recuperación para las concentraciones de 2 y 5 µg/L, de acuerdo a los requerimientos de la FDA (Food and Drug Administration, “Methods, Method Verification and Validation”, Laboratory Manual, ORA Laboratory Procedure, Volume II, ORA-LAB.5.4.5), en ellos se especifica que cada solución de calibración debe tener un porcentaje de recuperación del 80-120. En la Tabla 10 se presentan los resultados.

**Tabla 10.** Porcentajes de recuperación para los puntos de curva de 2 y 5 µg/L.

Analito	Concentración obtenida para 2 y 5 µg/L	% Recuperación	% Recuperación FDA
ACE-K	2,8	140	80 - 120
	5,0	100	
SAC	2,5	125	
	4,9	98	
CYC	2,5	125	
	5,1	102	
SUC	2,5	125	
	4,2	84	
ASP	2,5	125	
	4,8	96	

Al analizar la Tabla 10, los porcentajes de recuperación para el punto de 2 µg/L no cumplen con el criterio de aceptación de la FDA utilizado, el cual tiene un rango admisible de 80 a 120 % y, como se puede ver en la tabla 10, se obtuvo 140% para ACE-K, 125% para SAC, 125% para CYC, 125% para SUC y 125% para ASP, por lo que se decide que el rango de curva irá desde 5 µg/L hasta 200 µg/L. Rango que en matriz corresponde a 15 ppm hasta 600 ppm, intervalo que cubre tanto los LMP como los LC esperados.

Definido el rango lineal, se evaluó el efecto matriz tanto en leche como en jugo, para determinar si el estudio de linealidad se haría en solvente o en matriz.

Se evaluó el efecto matriz (EM) de acuerdo a guía SANTE, comparando las pendientes (b) de la curva en solvente y la curva en matriz como se indica en la siguiente ecuación:

$$EM = \left( \frac{b_{Matriz}}{b_{Solvente}} * 100 \right) - 100$$

**Tabla 11.** Efecto matriz para jugo.

Analito	Pendiente solvente	Pendiente matriz	EM
ACE-K	140523	153259	<b>9</b>
SAC	106759	113337	<b>6</b>
CYC	127290	143238	<b>13</b>
SUC	70494	59444	<b>-16</b>
ASP	54414,9	49001,9	<b>-10</b>

**Tabla 12.** Efecto matriz para leche.

Analito	Pendiente solvente	Pendiente matriz	EM
ACE-K	69327,9	66452,6	<b>-4</b>
SAC	48964,6	45905,9	<b>-6</b>
CYC	95736,2	93170,7	<b>-3</b>
SUC	13170,76	12238,62	<b>-7</b>
ASP	38381,9	38631,9	<b>0,7</b>

El efecto matriz debe ser inferior a  $\pm 20\%$  para poder utilizar una curva de calibración externa (en solvente). En caso de presentarse efecto matriz, la evaluación de linealidad se debe realizar con matriz en lugar de solvente.

Al analizar la Tabla 11 y 12 se puede ver que, para cada uno de los analitos el efecto matriz (EM) es inferior a  $\pm 20\%$ , tanto para néctar como para leche, por lo que, se concluye que no hay efecto matriz y se puede utilizar curva en solvente. Este resultado era esperado, pues en el proceso de extracción hay un factor de dilución de tres mil, con lo cual se reduce considerablemente la matriz. Dicho factor de dilución fue necesario para que los valores de LMP para cada analito por matriz estuvieran dentro del rango de curva de calibrado, así como los valores esperados de LC según Codex.

Comprobado que no hay efecto matriz, se continuó realizando el estudio de linealidad con curvas en solvente.

Se realizaron 10 curvas en solvente en distintos días por distintos o el mismo analista (ver anexo 2), los puntos de curva seleccionados fueron 5, 10, 15, 25, 50, 70, 100, 150 y 200  $\mu\text{g/L}$ . El resumen de los coeficientes de determinación se muestra en la Tabla 13. Con estos puntos de curva se cubre un rango de trabajo que va desde 15 hasta 600  $\text{mg/L}$ , correspondiente tanto los LC como los LMP por Codex. Se graficó la respuesta (Y) versus concentración (X) y se estimó la estadística de regresión. Como criterio se evaluó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de la curva de calibrado, el que debe ser  $\geq 0,990$ .

**Tabla 13.** Coeficientes de determinación para cada edulcorante.

EDULCORANTE	Coeficiente de determinación	Criterio
ACE-K	0,999	≥ 0,990
SAC	0,999	
CYM	0,999	
SUC	0,999	
ASP	0,999	

En las Tabla 13 se puede observar que los coeficientes de determinación cumplen con el criterio establecido, esto es  $r^2 \geq 0,990$ , por lo que, se verifica que hay comportamiento lineal desde 5 hasta 200 µg/L.

### 5.2.2. Límites de cuantificación y detección

Para obtener los límites de cuantificación y detección se fortificaron las muestras blanco de leche chocolatada y jugo de manzana a 15 mg/L que corresponden a 5 µg/L en el instrumento, punto más bajo de la curva de calibración, según estudio de linealidad. Para este estudio se realizaron 10 extracciones de cada matriz en condiciones de repetibilidad, se analizó el porcentaje de recuperación de las extracciones respecto de los criterios AOAC (Tabla 7), así como con los criterios establecidos en las Tablas 5 y 6 de aceptabilidad.

**Tabla 14.** Porcentajes de recuperación de fortificados a 15 mg/L de cada ENN en leche y jugo.

Matriz	Analito	% recuperación FT 15 mg/L	Criterio de aceptabilidad según AOAC
<b>Jugo</b>	ACE-K	103	80-110
	SAC	104	
	CYC	104	
	SUC	102	
	ASP	104	
<b>Leche</b>	ACE-K	104	
	SAC	101	
	CYC	102	
	SUC	103	
	ASP	100	

Al analizar los porcentajes de recuperación (Tabla 14), se puede concluir que, tanto para jugo como para leche, los fortificados a 15 mg/L de cada uno de los ENN, cumplen con el criterio AOAC de recuperación para ese nivel de concentración.

Para realizar los cálculos de límites, se multiplicó la desviación estándar (DS) de los datos de las 10 extracciones de las matrices fortificadas por 3 para el límite de detección y por 10 para el límite de cuantificación, como se muestra a continuación:

$$LD = 3 * DS \quad LC = 10 * DS$$

**Tabla 15.** Límites de cuantificación y de detección en leche y jugo.

Matriz	Analito	LC en matriz (mg/L)	LC en instrumento (µg/L)	LD en matriz (mg/L)	LD en instrumento (µg/L)
<b>Jugo</b>	ACE-K	7,5	2,5	2,3	0,8
	SAC	7,6	2,5	2,3	0,8
	CYC	8,2	2,7	2,4	0,8
	SUC	8,1	2,7	2,4	0,8
	ASP	6,4	2,1	1,9	0,6
<b>Leche</b>	ACE-K	8,3	2,8	2,5	0,8
	SAC	6,8	2,3	2,0	0,7
	CYC	7,7	2,6	2,3	0,8
	SUC	5,5	1,8	1,7	0,6
	ASP	7,6	2,5	2,3	0,8

De la Tabla 15, se obtiene que para la matriz jugo el límite de cuantificación para ACE-K es 7,5 mg/L, SAC 7,6 mg/L, CYC 8,2 mg/L, SUC 8,1 mg/L, ASP 6,4 mg/L. Lo que corresponde aproximadamente a 3 µg/L en el instrumento.

Para el caso de la leche, Tabla 15, el límite de cuantificación para ACE-K es 8,3 mg/L, SAC 6,8 mg/L, CYC 7,7 mg/L, SUC 5,5 mg/L, ASP 7,6 mg/L, lo que corresponde aproximadamente a 3 µg/L en el instrumento, excepto para SUC y SAC que es más cercano a 2 µg/L.

Se observa, además, que los límites para cada uno de los analitos en estudio son cercanos para ambas matrices, esto, debido a que no hay efecto matriz, por el factor de dilución en el proceso de extracción, haciendo que el comportamiento de los analitos en cada matriz sea similar.

**Tabla 16.** Criterios de aceptabilidad para límites de cuantificación y detección en matriz jugo y leche.

Matriz	Analito	LC en matriz (mg/L)	Criterio de aceptabilidad para LC ppm	LD en matriz (mg/L)	Criterio de aceptabilidad para LD ppm
Jugo	ACE-K	7,5	≤ 70	2,3	≤ 35
	SAC	7,6	≤ 16	2,3	≤ 8
	CYC	8,2	≤ 80	2,4	≤ 40
	SUC	8,1	≤ 60	2,4	≤ 30
	ASP	6,4	≤ 120	1,9	≤ 60
Leche	ACE-K	8,3	≤ 70	2,5	≤ 35
	SAC	6,8	≤ 16	2,0	≤ 8
	CYC	7,7	≤ 50	2,3	≤ 25
	SUC	5,5	≤ 60	1,7	≤ 30
	ASP	7,6	≤ 120	2,3	≤ 60

Respecto de los criterios de aceptabilidad, Tabla 16, cuyo cálculo se explica y detalla en las tablas de la 3 a la 6, se observa que tanto los límites de cuantificación como los de detección cumplen con los criterios establecidos por el Codex Alimentarius, por lo que, el estudio de límites es aceptable para cada uno de los ENN en las matrices leche y jugo.

Aun cuando los límites calculados cumplen con los criterios de aceptabilidad, el punto más bajo de la curva corresponde a 5 µg/L en el instrumento que equivalen a 15 mg/L en matriz. Del estudio de los límites se evaluó el porcentaje de recuperación para esta concentración a partir de 10 extracciones de cada matriz fortificadas en condiciones de repetibilidad cumpliendo en ambos casos con la recuperación según AOAC (Tabla 14). A partir de este análisis, se determinó utilizar como límite de cuantificación para todos los analitos en ambas matrices, el valor de 15 mg/L, equivalente al primer punto de curva, al ser un valor verificado y aprobado por sus porcentajes de recuperación, así como con los criterios de aceptabilidad para los LC. El límite de cuantificación más bajo esperado según la Tabla 16 es para sacarina que debe ser ≤ 16 mg/L para leche y jugo, el valor de LC de 15 mg/L cumple para este analito, por lo que se valida su uso. Respecto del límite de detección, este resulta aproximadamente 2 mg/L en matriz que equivale aproximadamente a 1 µg/L en el instrumento, se decide dejar un límite de detección práctico de 2 µg/L en el instrumento, que en el estudio de linealidad se logra detectar, pero no cuantificar.

### 5.2.3. Veracidad

Para el estudio de la veracidad se evaluó el porcentaje de recuperación de las muestras blanco de leche chocolatada y de jugo de manzana fortificadas a 15, 60 y 300 mg/L en matriz bajo condiciones de Repetibilidad. Estas concentraciones equivalen al límite de cuantificación práctico definido, y al nivel bajo y medio de la curva, respectivamente. Se realizaron seis determinaciones de cada matriz y se evaluó el porcentaje de recuperación según la Tabla 7 de criterios de aceptabilidad AOAC.

**Tabla 17.** Porcentajes de recuperación para estudio de veracidad en matrices leche chocolatada y néctar de manzana.

Matriz	Analito	% recuperación FT 15 mg/L	% recuperación FT 60 mg/L	% recuperación FT 300 mg/L
Néctar (jugo)	ACE-K	103	105	101
	SAC	104	102	100
	CYC	104	102	100
	SUC	102	107	93
	ASP	104	104	94
Leche	ACE-K	106	105	93
	SAC	101	106	94
	CYC	102	102	101
	SUC	103	102	100
	ASP	100	98	95

Al analizar los porcentajes de recuperación para los fortificados de 15, 60 y 300 mg/L (Tabla 17) en las matrices leche y néctar, se observa que los porcentajes de recuperación para cada analito cumplen con los criterios AOAC para cada concentración estudiada (ver Tabla 7).

### 5.2.4. Precisión

#### Repetibilidad

Para el estudio de repetibilidad se usaron los datos obtenidos de la veracidad para las dos matrices a tres niveles de fortificación, 15, 60 y 300 mg/L. Se realizaron 6 extracciones en un mismo día y por el mismo analista.

**Tabla 18.** Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 15 mg/L.

Matriz	Analito	CV%	CV % de Horwitz	Criterio de aceptación
Jugo	ACE-K	4,9	5,7	CV % < CV% de Horwitz
	SAC	5,0	5,7	
	CYC	2,6	5,7	
	SUC	5,0	5,7	
	ASP	4,9	5,7	
Leche	ACE-K	3,7	5,7	
	SAC	2,9	5,7	
	CYC	3,4	5,7	
	SUC	1,7	5,7	
	ASP	2,1	5,7	

**Tabla 19.** Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 60 mg/L.

Matriz	Analito	CV%	CV % de Horwitz	Criterio de aceptación
Jugo	ACE-K	1,2	4,3	CV % < CV% de Horwitz
	SAC	3,5	4,3	
	CYC	3,5	4,3	
	SUC	1,0	4,3	
	ASP	3,2	4,3	
Leche	ACE-K	1,7	4,3	
	SAC	1,7	4,3	
	CYC	1,4	4,3	
	SUC	2,4	4,3	
	ASP	1,2	4,4	

**Tabla 20.** Estudio de repetibilidad en matriz leche y jugo fortificada a 300 mg/L.

Matriz	Analito	CV%	CV % de Horwitz	Criterio de aceptación
Jugo	ACE-K	0,3	3,4	CV % < CV% de Horwitz
	SAC	0,2	3,4	
	CYC	0,3	3,4	
	SUC	2,9	3,4	
	ASP	2,5	3,4	
Leche	ACE-K	3,4	3,6	
	SAC	1,7	3,6	
	CYC	2,5	3,4	
	SUC	1,3	3,4	
	ASP	1,5	3,6	

El criterio de evaluación para la repetibilidad es la comparación del CV% con el CV% de Horwitz y se debe cumplir que CV % obtenido sea menor al CV% de Horwitz según cada

concentración para que el estudio de repetibilidad sea aceptable. Al analizar las Tablas 18,19 y 20, se observa que para todos los edulcorantes en estudio en ambas matrices se cumple el criterio de evaluación, con lo que se acepta el estudio de repetibilidad para las 3 concentraciones estudiadas.

Del estudio de repetibilidad se concluye que, para ambas matrices estudiadas, leche y jugo, se cumple con los criterios de aceptabilidad respecto de la evaluación de CV% y CV% de Horwitz para las 3 concentraciones estudiadas, por lo que el método es preciso en cuanto a condiciones de repetibilidad.

#### Precisión intermedia

Para la precisión intermedia, se realizaron 6 determinaciones de las matrices jugo y leche fortificadas a 60 y 300 mg/L, realizadas por analistas distintos en diferentes días.

**Tabla 21.** Estudio de precisión intermedia en leche y jugo fortificada a 60 mg/L.

Matriz	Analito	CV%	CV % de Horwitz	Criterio de aceptación
<b>Jugo</b>	ACE-K	0,7	5,8	CV % < CV% de Horwitz
	SAC	0,6	5,8	
	CYC	1,3	5,8	
	SUC	2,6	5,8	
	ASP	3,2	5,8	
<b>Leche</b>	ACE-K	5,4	5,8	
	SAC	5,4	5,8	
	CYC	3,5	5,8	
	SUC	2,9	5,8	
	ASP	2,5	5,9	

**Tabla 22.** Estudio de precisión intermedia en leche y jugo fortificada a 300 mg/L.

Matriz	Analito	CV%	CV % de Horwitz	Criterio de aceptación
<b>Jugo</b>	ACE-K	1,5	4,8	CV % < CV% de Horwitz
	SAC	1,2	4,8	
	CYC	1,2	4,5	
	SUC	2,4	4,5	
	ASP	3,8	4,8	
<b>Leche</b>	ACE-K	2,6	4,8	
	SAC	2,5	4,8	
	CYC	1,3	4,8	
	SUC	1,2	4,5	
	ASP	1,3	4,8	

Al analizar la Tabla 21, la precisión intermedia cumple con el criterio  $CV \% < CV\%$  de Horwitz, para todos los analitos en las matrices jugo y leche fortificadas a 60 mg/L.

Para el caso del estudio de precisión intermedia en leche y jugo fortificado con los ENN a 300 mg/L, se observa en la Tabla 22, que todos los edulcorantes cumplen con el criterio de aceptabilidad, por lo que, se valida y acepta el análisis. Del estudio de precisión intermedia se concluye que, para ambas matrices estudiadas, leche y jugo, se cumple con los criterios de aceptabilidad respecto de la evaluación de  $CV\%$  y  $CV\%$  de Horwitz.

### 5.2.5. Estimación de la incertidumbre

La incertidumbre se estimó para las matrices de leche y jugo, para ACE-K, SAC, CYC, SUC y ASP, a las concentraciones 60 y 300 mg/L.

Para la estimación de la incertidumbre se utilizó el enfoque descendente o también llamado caja negra, en que se determina la influencia de todas las fuentes de manera conjunta; para ello se usaron los datos derivados de la determinación de la precisión intermedia, así como también los datos derivados de la determinación de la veracidad (ver anexo 3).

Las incertidumbres resultantes se describen en la Tabla 23 a continuación.

**Tabla 23.** Incertidumbre expandida porcentual para cada ENN en matriz leche y jugo.

Matriz	Analito	Incertidumbre (%) a 60 mg/L	Incertidumbre (%) a 300 mg/L
<b>Jugo</b>	ACE-K	11,7	4,8
	SAC	9,3	3,6
	CYC	5,5	3,8
	SUC	16,0	15,0
	ASP	12,6	10,4
<b>Leche</b>	ACE-K	15,5	13,2
	SAC	15,5	8,6
	CYC	9,8	3,8
	SUC	14,1	3,5
	ASP	7,7	7,3

Se aplicó la incertidumbre expandida a cada resultado del análisis de muestras realizado.

### 5.3. Análisis muestras de leches y néctares endulzados con edulcorantes no nutritivos adquiridas en Supermercados de dos comunas de la Región Metropolitana.

En las Tablas 24 y 25 se pueden observar los antecedentes de las muestras adquiridas en los supermercados, de leches chocolatadas y jugos de manzanas analizados en este estudio. Se consideraron dos comunas, una urbana (Ñuñoa) y otra rural (Curacaví), de tal forma de tener representadas ambas realidades para la Región Metropolitana.

**Tabla 24.** Muestras de leche chocolatada con edulcorantes en formato individual.

Marca de leche	Lotes de muestras	Descriptor rotulado en el envase	Edulcorantes declarados	ingredientes
Milo	22/09/23F 10:59:51, 06/10/23F 12:59:24	No presenta	Sucralosa y Estevia	Leche semidescremada (65%), agua, extracto de malta, dextrina de maíz, cacao en polvo, reguladores de acidez (fosfato dicálcico, fosfato trisódico), estabilizantes (goma gelana, goma guar), vitaminas (niacina, B6, B2, D3, B12), Saborizantes naturales, <b>Edulcorantes (sucralosa y estevia)</b> , fumarato ferroso.
Soprole	17 06:26:04, 17 23:16:06, 201 02:28:48	No presenta	Sucralosa y estevia	Leche natural semidescremada, cacao (1.2%), celulosa microcristalina, citrato trisódico, fosfato disódico, cloruro de sodio, <b>estevia y sucralosa</b>
Trencito	29/09/23F 05:29:18, 07/09/23F 02:59:15, 26/10/23F 12:31:52	No presenta	Sucralosa	Leche parcialmente descremada (64%), agua, azúcar, cacao (0.9%), maltodextrina, espesantes (gel de celulosa), emulsionante (polifosfato de sodio), edulcorante ( <b>sucralosa</b> ), glucosa, saborizantes (idéntico al natural)
Shake Shake	L19 106609CC, L19 78738 77, L19 101526 N	Sin azúcar añadida, bajo en grasa total.	Estevia y Sucralosa	Leche semidescremada (85%), polidextrosa, cacao, maltodextrina, celulosa microcristalina, goma de celulosa, carragenina, sabor idéntico al natural, goma xántica, di y trifosfato de potasio y sodio, citrato tripotásico, <b>Estevia, Sucralosa</b>
Lonco Leche	93996 U, 90317 U, 97003 E	No presenta	Estevia y Sucralosa	Leche fluida semidescremada, cacao (0,9%), estabilizantes (celulosa microcristalina, goma de celulosa, , carragenina, fosfato disódico, maltodextrina), saborizante idéntico al natural, citrato tripotásico, di y trifosfato de potasio y sodio, fosfato dipotásico, cloruro de sodio, <b>estevia, Sucralosa</b> y vitaminas (A y D3)

**Tabla 25.** Muestras de néctar de manzana con edulcorantes en formato individual.

Marca de jugo	Lotes de muestras	Descriptor rotulado en el envase	Edulcorantes declarados	ingredientes
Del Valle	L6 08, L5 07	Néctar bajo en calorías, sin preservantes, bajo en sodio, hecho con pulpa de fruta	Sucralosa	Agua, pulpa de manzana (21% m/m), azúcar, ácido málico, citrato de sodio, goma guar, saborizantes idéntico al natural, <b>SUCRALOSA</b> , ácido ascórbico y ácido cítrico.
Vivo	04:56/06, 08:42/05, 14:03/11	Con el doble de fruta, 0% sin azúcar añadida, sin colorantes, sin preservantes	Sucralosa, Stevia	Agua purificada, jugo de manzana clarificado, ácido cítrico, carboximetilcelulosa sódica, sabor idéntico al natural de manzana, <b>STEVIA</b> , goma xanthan, <b>SUCRALOSA</b> , vitamina C (0,0063%), vitamina E (0,0021%), vitamina A (0,0000842%), polidimetilxiloxano. Sin colorantes. Con el doble de fruta que el mínimo de fruta requerido para un néctar por el RSA.
Watts	L 17 88295, L18 103078 E, L17 100426	Reducido en calorías, sin saborizantes artificiales, sin preservantes, sin colorantes, hecho con fruta natural, con stevia.	Sucralosa, Stevia	Agua, jugo concentrado de manzana, azúcar, ácido cítrico, goma xántica, aroma idéntico al natural, ácido ascórbico, <b>SUCRALOSA</b> , <b>STEVIA</b> y dimetilpolisiloxano
ZUKO	21/24L5A, 10:44 L4C, 22:39L4A	Bajo en calorías, sin colorantes artificiales,	Aspartamo, acesulfamo K	Agua, pulpa y jugo concentrado de manzana, ácido cítrico, goma de celulosa, saborizantes idénticos a natural, <b>aspartamo*</b> , ácido ascórbico, citrato de sodio, goma xántica, <b>acesulfamo K</b> , dimetilpolisiloxano. <b>*FENILCETONURICOS: CONTIENE FENILALANINA.</b>
LIVIAN	00:59L7C, 00:4316C, 06:06L17C	0% Azúcar añadida, sin colorantes artificiales, bajo en calorías, con antioxidantes naturales de té verde.	Acesulfamo de potasio, Sucralosa, aspartamo.	Agua, jugo concentrado de manzana, ácido cítrico, ácido ascórbico, <b>aspartamo*</b> , saborizantes idénticos a natural de manzana, citrato de sodio, té verde instantáneo en polvo (0,012%) (polifenoles de té verde 0,0037%), <b>acesulfamo de potasio, sucralosa.</b> <b>*Fenilcetonúricos: Contiene Fenilalanina.</b>

De las muestras compradas en el supermercado, al analizar la matriz leche chocolatada, para la marca Milo sólo se encontraron 2 lotes distintos, para el resto de las leches se encontraron los tres lotes que se pretendía adquirir. Todas las muestras recolectadas de leche chocolatada (Tabla 24), presentan edulcorantes en su lista de ingredientes, las marcas Milo, Soprole, Shake Shake y Lonco Leche presentan 2 edulcorantes, estevia y

sucralosa, en el caso de la leche Trencito esta presenta sólo sucralosa en su lista de ingredientes.

De las muestras de néctares de manzana, se muestrearon 3 lotes de cada marca, excepto para la marca Del Valle que sólo se encontraron dos lotes diferentes, al analizar la Tabla 25, solo el jugo de la marca Del Valle presenta en su lista de ingredientes un único edulcorante, correspondiente a sucralosa, el resto de las marcas usa más de un edulcorante en su lista de ingredientes, siendo el jugo marca Livian el que más edulcorantes usa, estos son: acesulfamo K, sucralosa y aspartamo. El resto de las marcas usa dos edulcorantes, la marca Zuko usa aspartamo y acesulfamo K, el jugo Watts sucralosa y estevia al igual que el jugo marca Vivo.

**Tabla 26.** Concentración de edulcorantes declarados en las leches chocolatadas.

Marca de leche	Sucralosa mg/100 mL	Estevia mg/100mL
<b>Milo</b>	3,15	1,07
<b>Soprole</b>	6,8	10,2
<b>Trencito</b>	7,5	No declara
<b>Shake shake</b>	7,5	3,3
<b>Lonco Leche</b>	5,7	5,8

En la Tabla 26 se observan las concentraciones de edulcorantes declaradas en cada leche muestreada, la marca que menor concentración de sucralosa presenta es la leche Milo con 3,15 mg/100 mL y la que más sucralosa utiliza es la leche Trencito y Shake Shake con 7,5 mg/100mL. Respecto del uso de estevia, que no será analíticamente analizado en esta tesis, se observa que la leche Milo tiene el menor uso de concentración respecto de las otras marcas, esto es 1,07 mg/100 mL, y la marca que tiene una mayor concentración de uso de estevia es la leche Soprole con una concentración de 10,2 mg/100mL. Solo la leche Trencito no declara contener estevia en su lista de ingredientes, pues contiene un único edulcorante.

**Tabla 27.** Concentración de edulcorantes declarados en los néctares de manzana.

Marca de jugo	Sucralosa mg/100 mL	Stevia mg/100mL	Aspartamo mg/100mL	Acesulfamo k mg/100 mL
<b>Del Valle</b>	14	No declara	No declara	No declara
<b>Vivo</b>	7,2	23	No declara	No declara
<b>Watts</b>	10	2,3	No declara	No declara
<b>Zuko</b>	No declara	No declara	33	7
<b>Livian</b>	2	No declara	28	8

Respecto de la concentración declarada de edulcorantes en las muestras de jugo (Tabla 27), la marca Del Valle presenta la mayor concentración de sucralosa correspondiente a 14 mg/100 mL, y la marca que menor concentración de sucralosa presenta es Livian con 2 mg/100 mL, sin embargo, esta marca presenta aspartamo y acesulfamo K en concentraciones de 28 y 8 mg/100 mL, respectivamente. Respecto de estevia, solo las marcas Vivo y Watts los utilizan en concentración de 23 y 2,3 mg/100mL respectivamente. La marca Zuko declara aspartamo en concentración de 33 mg/100 mL y acesulfamo K en concentración de 7 mg/100 mL.

Los resultados del análisis de laboratorio de las muestras tanto de jugos de manzana como de leche chocolatada, mediante determinación por HPLC-MS/MS, se muestran en la Tabla 28.

**Tabla 28.** Resultados de concentraciones  $\pm$  incertidumbre, de muestras de supermercado de leche líquida y néctares analizadas en el laboratorio.

Matriz	Marca	ACE-K mg/100mL	SAC mg/100mL	CYC mg/100mL	SUC mg/100mL	ASP mg/100mL	
<b>Jugo</b>	Del Valle	< 1,5	< 1,5	< 1,5	14,0 $\pm$ 2,2	< 1,5	
	Vivo	< 1,5			6,3 $\pm$ 1,0		
	Watts	< 1,5			9,4 $\pm$ 1,5		
	Zuko	7,0 $\pm$ 0,8			< 1,5		31,4 $\pm$ 4,0
	Livian	7,1 $\pm$ 0,8			1,8 $\pm$ 0,3		26,0 $\pm$ 3,3
<b>Leche</b>	Milo	< 1,5	< 1,5	< 1,5	2,9 $\pm$ 0,4	< 1,5	
	Soprole				6,6 $\pm$ 0,9		
	Trencito				7,8 $\pm$ 1,1		
	Shake shake				7,2 $\pm$ 1,0		
	Lonco Leche				5,4 $\pm$ 0,8		

De la Tabla 28 se puede decir que las marcas de jugos adquiridas para este análisis no utilizan en sus formulaciones sacarina ni ciclamato, los cuales se encuentran bajo el límite de cuantificación y solamente algunas marcas, Zuko y Livian, utilizan acesulfamo de potasio y aspartamo como edulcorantes. Las concentraciones de ACE-K fueron 7,0 y 7,1 mg/100mL de producto para Zuko y Livian, respectivamente, y para ASP fueron 31,4 y 26,0 mg/100 mL de producto, respectivamente. De los resultados la mayoría de las marcas utilizan Sucralosa, a excepción de la marca Zuko. Las concentraciones de sucralosa obtenidas van desde 1,8 mg/100mL de producto, que fue la concentración cuantificable más baja correspondiente a la marca Livian, hasta 14,0 mg/100mL de producto, máxima concentración, correspondiente a la marca Del Valle.

#### **5.4. Contrastación de los ENN encontrados analíticamente en cuanto a la declaración en el producto y cumplimiento con la reglamentación nacional e internacional utilizada.**

Para el caso de la leche líquida chocolatada, los únicos edulcorantes declarados por la industria respecto de las muestras analizadas correspondieron a sucralosa y estevia. De ellos, el considerado en este estudio correspondió a sucralosa. La Tabla 26 indica las concentraciones declaradas de sucralosa y la Tabla 28 lo encontrado analíticamente. No se encontraron otros edulcorantes que no estuviera declarados en las listas de ingredientes de los productos analizados. Por lo anterior, se corrobora que los ENN encontrados cromatográficamente corresponden a lo declarado en cada marca de leche muestreada, sin considerar a la estevia, que no es parte del método analítico.

Para el caso de los néctares de manzana, la Tabla 27 muestra la concentración declarada y la Tabla 28 lo encontrado analíticamente. Al igual que el caso de la leche líquida, en los néctares, cromatográficamente, solo se encontró lo que declara el rótulo.

La Tabla 29 muestra una comparación de los valores declarados para sucralosa en leches chocolatadas versus los valores encontrados. Se corrobora que lo encontrado analíticamente corresponde con lo declarado y la diferencia entre lo cuantificado y lo declarado solo en uno de los casos analizados, está por sobre lo indicado en el rótulo.

**Tabla 29.** Comparación valor encontrado con el valor declarado, para la matriz leche.

Marca de leche	Concentración cuantificada mg/100mL de producto	Valor declarado mg/100 mL de producto
<b>Milo</b>	2,9 ± 0,4 (2,5 a 3,3)	3,2
<b>Soprole</b>	6,6 ± 0,9 (5,7 a 7,5)	6,8
<b>Trencito</b>	7,8 ± 1,1 (6,7 a 8,9)	7,5
<b>Shake Shake</b>	7,2 ± 1,0 (6,2 a 8,2)	7,5
<b>Lonco Leche</b>	5,4 ± 0,8 (4,6 a 6,2)	5,7

Respecto de las concentraciones de ENN analizadas en jugos de manzana, la Tabla 30 muestra una comparación de los valores declarados versus los valores encontrados.

**Tabla 30.** Comparación de valor encontrado versus valor declarado en jugo de manzana aplicando la incertidumbre del método.

Marca	Edulcorante	Concentración cuantificada mg/100mL	Concentración declarada mg/100mL
<b>Zuko</b>	ACE-K	7,0 ± 0,8 (6,2 - 7,8)	7
<b>Livian</b>	ACE-K	7,1 ± 0,8 (6,3 - 7,9)	8
<b>Zuko</b>	ASP	31,4 ± 1,3 (30,1 - 32,7)	33
<b>Livian</b>	ASP	26,0 ± 1,1 (24,9 - 27,1)	28
<b>Del Valle</b>	SUC	14,0 ± 2,2 (11,8 - 16,2)	14
<b>Vivo</b>	SUC	6,3 ± 1,0 (5,3 - 7,3)	7,2
<b>Watts</b>	SUC	9,4 ± 1,5 (7,9 - 10,9)	10
<b>Livian</b>	SUC	1,8 ± 0,3 (1,5 - 2,1)	2

Por lo tanto, se corrobora que lo encontrado analíticamente corresponde con lo declarado y la diferencia entre lo cuantificado y lo declarado en ninguno de los casos analizados está por sobre lo indicado en el rótulo, ver Tabla 30.

Respecto de la reglamentación nacional el RSA en el artículo 213, indica la definición de leche saborizada (ver anexo 4), de acuerdo a dicha definición las leches comerciales cumplen con lo descrito en el artículo.

En la Tabla 24, se puede observar los ingredientes de cada leche muestreada. Respecto de las listas de estabilizantes/espesantes, aromatizantes y saborizantes autorizados por el RSA las leches muestreadas cumplen con lo declarado, pues es lo permitido por el reglamento, ver Anexo 5.

El RSA en su artículo 485, describe la definición y requisitos de néctar de fruta (ver anexo 4), respecto de la definición de jugo todos los jugos analizados cumplen con el artículo.

Al analizar la Tabla 25, las listas de ingredientes de los néctares de manzana cumplen con los aditivos autorizados por el RSA, ver Anexo 4.

Respecto de los edulcorantes el RSA en su Artículo 146 (ver anexo 4), indica qué alimentos pueden utilizar edulcorantes, y como deben rotularse. Los descriptores (ver anexo 6) que pueden ser utilizados para cumplir con el artículo 146 se describen en el artículo 120 (ver anexo 4).

Los néctares de manzana y leches líquidas chocolatadas cumplen con el rotulado exigido en el RSA, pues al observar las Tablas 24 y 25, los edulcorantes están destacados en la lista de ingredientes, ya sea con negrita o con mayúscula, además, se indica en el envase de cada producto la concentración por porción y por 100 mL e indica la IDA correspondiente (ver Anexo 1, foto de envases).

Para el caso de los néctares que utilizan aspartamo, estos cumplen con declarar de forma destacada “Fenilcetonúricos; contiene fenilalanina”. Ninguna de las leches usa aspartamo.

Como el RSA no tiene límites máximos permitidos para los edulcorantes y sólo se regula respecto del cumplimiento de las IDA de cada edulcorante, es que se analizaron los resultados obtenidos por la reglamentación internacional de Codex, obtenido de CODEX STAN 192-1995, revisión 2023, correspondiente a la Norma General de Aditivos Alimentarios (NGAA).

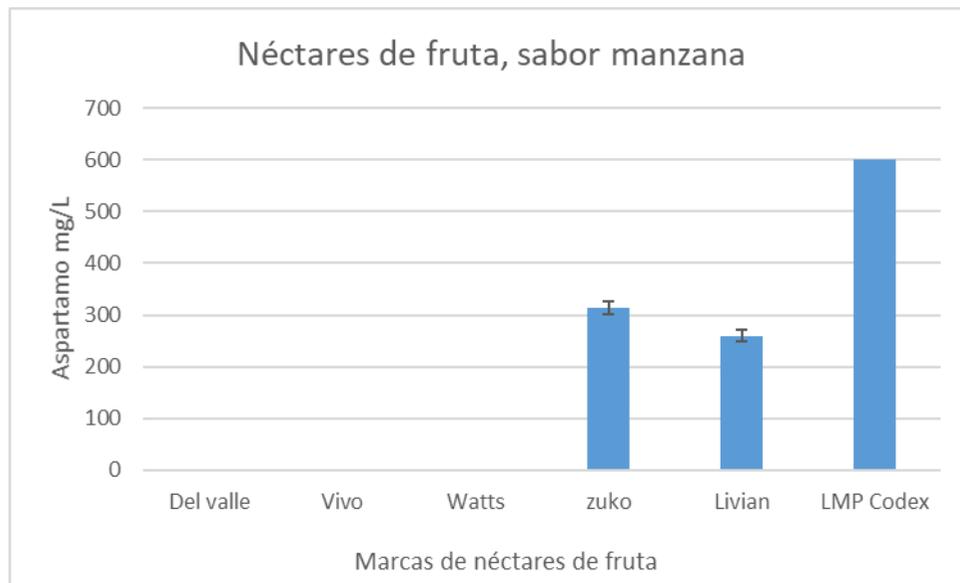
La NGAA está dividida por categorías de alimentos y estas categorías permiten el uso de ciertos aditivos que allí se describen con sus límites máximos permitidos (LMP) numéricos por productos o como buenas prácticas de fabricación (BPF). Para las leches saborizadas y néctares de fruta la NGAA describe estas categorías como se muestra en el anexo 7.

Al comparar la definición de néctar de fruta de Codex con la del RSA, la de Codex es más estricta con el uso de aditivos, mientras que el RSA permite usar todos los aditivos autorizados por el reglamento en los alimentos.

Respecto de los aditivos autorizados por la NGAA para la categoría de alimentos 14.1.3.1 (néctar de fruta, anexo 7), donde aparecen las dosis máximas de uso de los aditivos en los productos en mg/kg o como dosis máxima de buenas prácticas de fabricación (BFP), las dosis máximas para los edulcorantes en estudio son; ACE-K 350 mg/kg, ASP 600 mg/kg, CYC 400 mg/kg, SAC 80 mg/kg y SUC 300 mg/kg

Del análisis de las categorías de alimentos según Codex, se puede decir que, los edulcorantes en estudio se permiten en la categoría correspondiente.

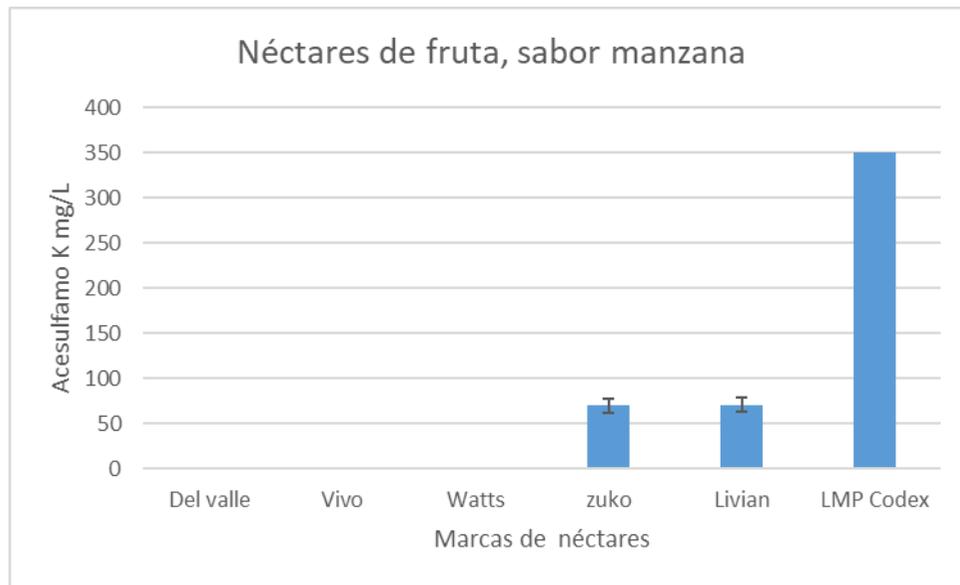
Las Figuras de la 11 a la 13 muestran las gráficas para ASP, ACE-K y SUC con los límites máximos permitidos por Codex y las concentraciones encontradas de los edulcorantes en las muestras de néctares de manzana analizadas en el laboratorio.



**Figura 11.** Concentraciones de ASP cuantificada en mg/L de producto y comparadas con el LMP Codex.

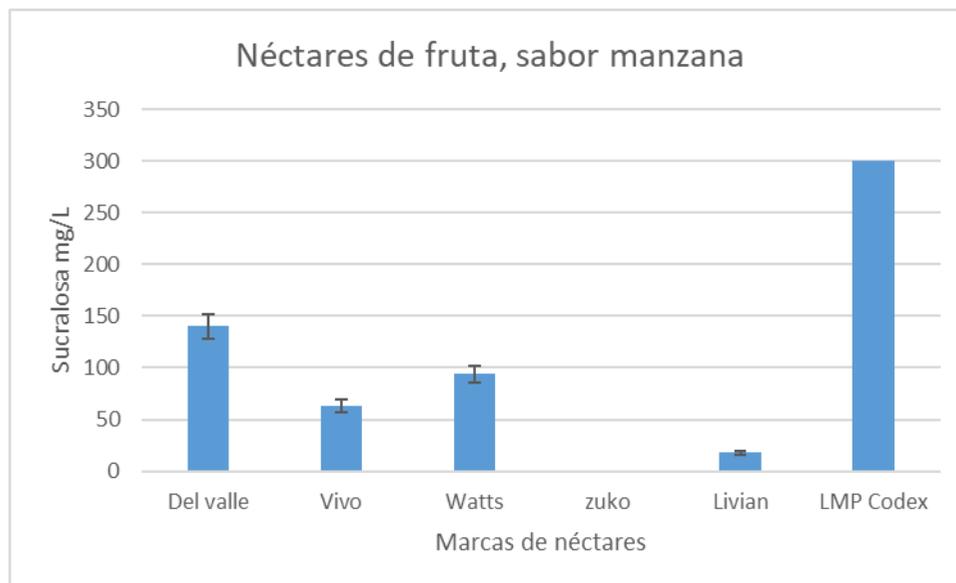
La Figura 11, muestra gráficamente, que para las dos marcas de néctares de manzana que utilizan ASP en su lista de ingredientes y que se corroboró analíticamente, no se supera el LMP establecido por la NGAA, por lo que, cumpliría con la reglamentación

internacional del Codex Alimentarius. Las otras tres marcas no declaran el uso de este aditivo y efectivamente los resultados de su análisis están bajo el límite de cuantificación de la metodología.



**Figura 12.** Concentraciones de ACE-K cuantificada en mg/L de producto y comparadas con el LMP según Codex.

La Figura 12, muestra que para ACE-K, no se supera el LMP según Codex para las dos marcas que lo contienen, por lo que, cumple con la reglamentación internacional respecto de los límites máximos.

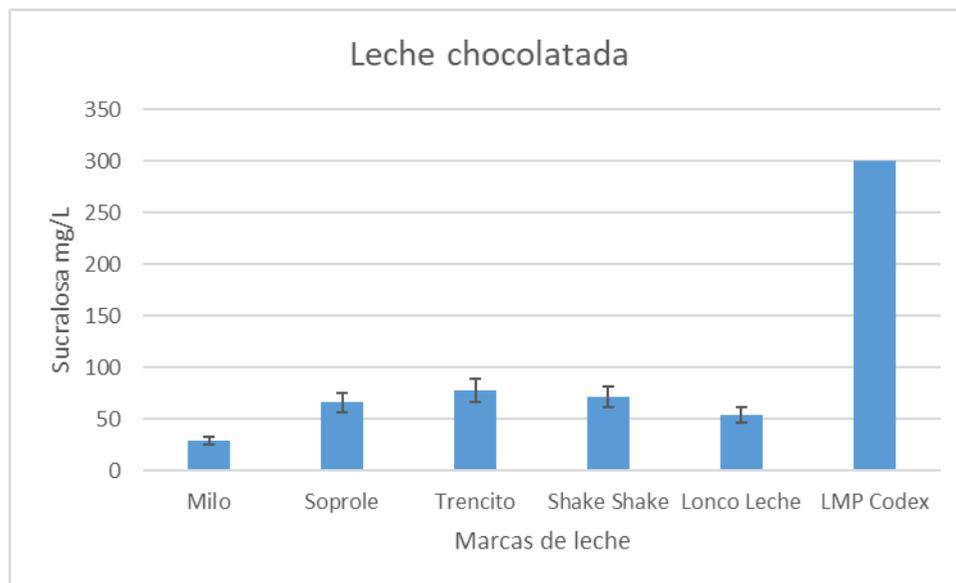


**Figura 13.** Concentraciones de sucralosa cuantificada en mg/L de producto y comparadas con el LMP según Codex.

La figura 13 muestra gráficamente que cuatro de las marcas obtenidas en el supermercado y analizadas en el laboratorio presentan sucralosa, estas son Del Valle, Vivo, Watts y Livian. Las concentraciones de sucralosa de las cuatro marcas están por debajo del LMP según Codex, por lo que, cumplen con dicha norma.

Respecto de la leche saborizada, la NGAA describe en la categoría de alimentos 01.1.4 las leches saborizadas, correspondientes a leches líquidas aromatizadas (ver anexo 7). Los aditivos permitidos para esta categoría de alimentos se describen en el anexo 7, donde se muestran los límites máximos permitidos o las dosis máximas de uso para cada aditivo en el producto. Los cinco edulcorantes analizados en esta tesis, son permitidos por la NGAA y los límites máximos son; para acesulfamo de potasio 350 mg/kg, aspartamo 600 mg/kg, ciclamato 250 mg/kg, sacarina 80 mg/kg y sucralosa 300 mg/kg.

El siguiente gráfico, Figura 14, compara las concentraciones determinadas de sucralosa en leches chocolatadas con el límite máximo permitido en el producto según Codex para este edulcorante. Acesulfamo de K, sacarina, aspartamo y ciclamato no se declararon en el rótulo de estos productos, observándose, además, que estos edulcorantes están bajo el límite de cuantificación del método, tal como se indica en la Tabla 28, por lo que, no se incluyen sus gráficas.



**Figura 14.** Concentraciones de sucralosa cuantificables en mg/L de producto matriz leche chocolatada y comparadas con el LPM según Codex.

La Figura 14, indica que ninguna marca de leche chocolatada supera el LPM para sucralosa según Codex, por lo que las marcas analizadas cumplen con la normativa internacional.

#### 5.5. Evaluación del riesgo de exposición a ENN en niños de 2 a 9 años

Respecto del tratamiento de datos para la evaluación de exposición, se consideraron válidos todos los datos de resultados analíticos, ya que, cumplieron con los criterios de calidad establecidos. Para los resultados analíticos informados como menor al límite de cuantificación ( $< 1,5 \text{ mg}/100\text{mL}$ ), se utilizó el método de sustitución para incorporar los resultados individuales informados como bajo el límite de cuantificación a la evaluación de la exposición, estos datos se describen como “número de datos censurados” como se observa en la Tabla 31. Dicho tratamiento de datos es el recomendado por la OMS para evaluaciones de exposición y riesgo químicos en alimentos (ACHPIA, 2021). En la Tabla 31, se presentan las muestras por matriz de alimentos consideradas en esta tesis, la concentración máxima encontrada entre las marcas estudiadas (ver Tabla 27), que corresponde al escenario evaluado, para ACE-K, ASP, SUC, y se excluyen SAC, CYC, por estar bajo el límite de cuantificación en las matrices analizadas. La Tabla 31

además indica el número de datos censurados por categoría. Para el caso de la estevia se realizó una evaluación con los datos declarados por el fabricante, pues no fue analíticamente analizado, pero resulta interesante su evaluación.

**Tabla 31.** Resumen de concentraciones máximas encontradas, utilizadas en la evaluación de exposición.

Matriz	ACE-K mg/L	Datos censurados de ACE-K	SUC mg/L	Datos censurados SUC	ASP mg/L	Datos censurados ASP	Estevia declarada mg/L
<b>Nectar de manzana</b>	71	3	140	1	314	3	230
<b>Leche líquida chocolatada</b>	< 15	5	78	0	< 15	5	102

Para considerar una mayor cantidad de fuentes de exposición al momento de realizar la evaluación de ingesta, se realizó un levantamiento de la información declarada en el rótulo para otras matrices alimentarias no consideradas en este estudio, pero sí altamente consumidas por niños, como galletas, cereales, bebidas de fantasía, yogurt y jugo en polvo. Para este efecto, estas matrices fueron estudiadas en los supermercados de la comuna de Curacavi. La Tabla 32 muestra la información recogida de estas matrices a partir de su revisión de rótulo en el supermercado, por lo que, no aplica la censura de datos menores al límite de cuantificación del método ya que, estas matrices no fueron sometidas a análisis de laboratorio. Del mismo modo que en el caso anterior, no se considera ciclamato ni sacarina al no ser utilizados en estos productos. Los datos totales y las marcas de los productos se encuentran en el Anexo 8.

**Tabla 32.** Levantamiento de información relativa a ENN en productos consumidos por niños disponibles en supermercados visitados.

Matriz	ACE-K mg/L	SUC mg/L	ASP mg/L	Estevia declarada mg/kg o L
<b>Galleta dulce</b>	No declara	No declara	No declara	200
<b>Cereal</b>	No declara	419	No declara	130
<b>Barras de cereal</b>	No declara	165	No declara	1
<b>Bebida de fantasía</b>	160	197	750	No declara
<b>Jugo en polvo</b>	160	80	420	No declara
<b>Yoghurt</b>	No declara	120	No declara	75

Los antecedentes de consumo al día y por grupo etario se obtuvieron del estudio de ACHIPIA 2021, y se resumen en la Tabla 33, de acuerdo a las matrices analizadas en

el laboratorio y a las estudiadas en el supermercado. El valor de consumo que aparece en el estudio de ACHIPIA corresponde a la media de consumo para toda la población en cada grupo etario/alimento (No consumen + Consumen).

**Tabla 33.** Consumo en g o mL al día por matriz alimentaria y por grupo etario. ACHIPIA 2021.

Matriz	Consumo diario en niños pequeños (g o mL/día)	Consumo diario en niños (g o mL/día)
<b>Leches líquidas</b>	74,9	104,9
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	64,5	63,5
<b>Galleta dulce</b>	4,6	9,7
<b>Cereal</b>	3,3	6,5
<b>Barras de cereal</b>	0,2	0,3
<b>Bebida de fantasía</b>	57,2	142,6
<b>Jugo en polvo</b>	62,9	204,6
<b>Yoghurt</b>	96,7	98,5

Con los datos de las Tablas 31, 32 y 33 más los pesos promedios provenientes de la ENCA 2010 y que se utiliza para el estudio de ACHIPIA, se realizó la evaluación de exposición. La evaluación se realizó considerando un consumo promedio con altas concentraciones a largo plazo, referido a la lealtad a la marca, para ello, se utilizaron los valores de consumo promedio y la concentración máxima encontrada de edulcorante en cada caso. No se realizó una evaluación de mayor riesgo (con el consumo del percentil 95 por ejemplo), por no disponer de estos datos.

La Tabla 34, muestra los resultados de evaluación de exposición a ACE-K para niños pequeños de 2 años y de 3 a 9 años, sumando todas las exposiciones por matrices que aportaron la máxima concentración del analito, para analizar si consumiendo todas las matrices tanto determinadas en el laboratorio como estudiadas en el supermercado, pueden superar la IDA. Las barras de cereal, cereal, yogurt, leche y galletas no utilizan ACE-K, por lo que, no aparecen en la Tabla. Las Tablas con los datos que dan como resultado la información mostrada en la Tabla 34 y en las siguientes, se muestra en el anexo 8.

**Tabla 34.** Evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años que consumen productos con ACE-K.

Matriz	Exposición n mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad	Niños de 2 años		
				Niños de 3 a 9 años		
Néctares o jugos líquidos	0,3	2,0	0,022	0,17	1,1	0,011
Bebida de fantasía	0,65	4,3	0,044	0,85	5,7	0,056
Jugo en polvo	0,72	4,8	0,048	1,21	8,1	0,081
<b>Total</b>	<b>1,67</b>	<b>11,1</b>	<b>0,114</b>	<b>2,23</b>	<b>14,9</b>	<b>0,148</b>

De la Tabla 34, se puede concluir que, tanto los niños de 2 años como los del rango de 3 a 9 años, al consumir al día néctar, bebida y jugo en polvo, en las cantidades

especificadas como consumo mL/día (ver anexo 8), no superan la IDA del ACE-K (15 mg/kg de peso corporal por día), pues la exposición total resulta muy por debajo de la IDA, 1,67 y 2,23 mL/kg peso corporal día, para niños de 2 y 3 a 9 años respectivamente. Al analizar las contribuciones porcentuales, la matriz que más contribuye es el jugo en polvo con un 4,8 % y 8,1% para niños de 2 y 3 a 9 años. Respecto de la razón de peligrosidad que corresponde a la exposición calculada dividida por la IDA, el valor obtenido para la exposición total es de 0,114 y 0,148, para niños de 2 y 3 a 9 años, respectivamente, no siendo cercano ni superior a 1, por lo que, no habría riesgo aparente.

Al comparar ambos grupos etarios la mayor exposición la presentan los niños de 3 a 9 años, al consumir mayor cantidad de las matrices analizadas y estudiadas, pues por peso corporal era esperado que la exposición hubiera sido mayor en niños de 2 años al pesar menos, sin embargo, el rango etario de 3 a 9 años consume más de estas matrices. De igual modo, llama la atención que los niños de 2 años presenten datos de consumo de bebidas de fantasía considerando que son niños pequeños.

La Tabla 35, muestra la evaluación de exposición para SUC en niños pequeños de 2 años y de 3 a 9 años, en las matrices tanto analizadas analíticamente como las estudiadas en el supermercado con las concentraciones declaradas. Se excluye la galleta dulce, pues no declara sucralosa.

**Tabla 35.** Evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años que consumen productos con SUC.

Matriz	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad	Exposición		
				mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
	Niños de 2 años			Niños de 3 a 9 años		
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	0,6	4,0	0,043	0,33	2,0	0,022
<b>Leche líquida</b>	0,4	2,7	0,028	0,30	2,0	0,020
<b>Cereal</b>	0,1	0,7	0,007	0,10	0,7	0,007
<b>Barra de cereal</b>	0,002	0,013	0,0002	0,002	0,013	0,0001

<b>Bebida de fantasía</b>	0,8	5,3	0,054	1,04	6,9	0,069
<b>Jugo en polvo</b>	0,4	2,7	0,024	0,606	4,0	0,040
<b>Yoghurt</b>	0,8	5,3	0,055	0,438	2,9	0,029
<b>Total</b>	<b>3,1</b>	<b>20,7</b>	<b>0,21</b>	<b>2,82</b>	<b>18,8</b>	<b>0,18</b>

De la Tabla 35, se puede decir que, tanto los niños de 2 años como los del rango 3 a 9 años de edad, al consumir al día todas las matrices detalladas en la Tabla en las cantidades expuestas como consumo en g o mL/día (Tabla 33), no superan la IDA de la SUC (15 mg/kg de peso corporal por día), pues la exposición total resultó 3,1 y 2,82 mg o mL/kg peso corporal día para niños de 2 y de 3 a 9 años, respectivamente, valores muy por debajo de la IDA. Al analizar las contribuciones porcentuales, para los niños pequeños de 2 años, las matrices que más contribuyen son la bebida y el yogurt, ambas con un 5,3 %. Respecto de la contribución porcentual para los niños de 3 a 9 años la matriz que más contribuyó fue la bebida de fantasía con un 6,9 %. Al analizar el factor de peligrosidad para ambos grupos etarios en estudio este resultó menor a 1, siendo 0,21 y 0,18 para niños de 2 y 3 a 9 años respectivamente, por lo que, no habría riesgo aparente. En este caso, matrices con sucralosa, los niños pequeños de 2 años resultan más expuestos, al tener un peso corporal más bajo.

La Tabla 36, muestra la evaluación de exposición para niños de 2 y 3 a 9 años a ASP, en las matrices tanto analizadas en el laboratorio como las estudiadas en el supermercado con las concentraciones declaradas, que posean la máxima concentración de ASP. Se excluyen las matrices, galleta dulce, leche líquida, yogurt, barras de cereal, cereal, pues no declaran ASP.

**Tabla 36.** Evaluación de exposición para niños de 2 y de 3 a 9 años que consumen productos con ASP.

Matriz	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
	Niños de 2 años			Niños de 3 a 9 años		
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	1,4	3,5	0,036	0,7	1,85	0,018
<b>Bebida de fantasía</b>	3,1	7,8	0,077	4,0	9,9	0,099
<b>Jugo en polvo</b>	1,9	4,8	0,047	3,2	7,95	0,080
<b>Total</b>	6,4	16,1	0,16	7,9	19,7	0,197

De la Tabla 36, se puede decir que, los niños de 2 años y los de 3 a 9 años, al consumir al día todas las matrices detalladas en la Tabla, en las cantidades especificadas, no superan la IDA de ASP (40 mg/kg de peso corporal por día), pues la exposición total 6,4 y 7,9 mg o mL/kg peso corporal día, para niños de 2 y 3 a 9 años respectivamente, resulta muy por debajo de 40, contribuyendo con un 16,1 y 19,7 % de la IDA máxima permitida. Al analizar las contribuciones porcentuales, la matriz que más contribuye es la bebida, tanto para niños de 2 años como de 3 a 9 años, con un 7,8 % y 9,9 %, respectivamente. Respecto de la razón de peligrosidad, el valor obtenido para los niños de 2 años fue 0,16 y para los niños de 3 a 9 años fue 0,197, valores que en ambos casos dan resultados menores a 1, por lo que no habría riesgo aparente. La exposición para los niños de 3 a 9 años resultó mayor que para los niños de 2 años y esto debido al mayor consumo de las matrices descritas, a pesar de tener mayor peso corporal.

La Tabla 37, muestra la evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años a estevia. La estevia no fue analizada en el laboratorio, sin embargo, resulta interesante de evaluar, pues las matrices que se estudiaron en el supermercado la utilizan y de los edulcorantes declarados en las matrices en estudio resulta ser la que tiene menor IDA. Para esta evaluación se utiliza la concentración declarada en el rótulo del envase y los productos que tengan las más altas concentraciones de estevia. Se excluyen las matrices, barras de cereal, jugo en polvo, bebida, pues no declaran estevia.

**Tabla 37.** Evaluación de exposición para niños de 2 y 3 a 9 años que consumen productos con estevia.

Matriz	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
	Niños de 2 años			Niños de 3 a 9 años		
<b>Néctar o jugo líquido</b>	1,1	27,5	0,265	0,52	13,5	0,135
<b>Leche líquida</b>	0,5	12,5	0,136	0,40	10	0,099
<b>Galleta dulce</b>	0,1	2,5	0,016	0,07	1,75	0,018
<b>Cereal hojuela</b>	0,01	0,25	0,002	0,02	0,5	0,004
<b>Yogurt</b>	0,52	13,0	0,130	0,27	6,75	0,068
<b>Total</b>	<b>2,23</b>	<b>55,75</b>	<b>0,549</b>	<b>1,3</b>	<b>32,5</b>	<b>0,324</b>

De la Tabla 37, se puede decir que, tanto los niños de 2 años como los de 3 a 9 años al consumir al día todas las matrices detalladas en la Tabla, en las cantidades especificadas, no superan la IDA de estevia (4 mg/kg de peso corporal por día), pues la exposición total resulta 2,2 mg o mL/kg peso corporal día para niños de 2 años y 1,3 mg o mL/kg peso corporal día para niños de 3 a 9 años, lo que contribuye con un 56 y 32,5 % de la IDA máxima permitida. Al analizar las contribuciones porcentuales, la matriz que más contribuye es el néctar o jugo líquido en ambos grupos etarios con un 27,5 y 13,5 %, para los niños de 2 años y de 3 a 9 años, respectivamente. Respecto de la razón de peligrosidad, para la suma de todas las matrices estudiadas resultó en 0,549 para niños de 2 años, si bien es menor a 1, no es lo suficientemente menor, por lo que no es posible descartar el riesgo asociado al consumo de estevia en niños pequeños, de acuerdo a la evaluación de exposición realizada. En el caso de los niños de 3 a 9 años de edad la razón de peligrosidad resulta 0,32, valor que no es cercano ni superior a 1, por lo que, no habría riesgo aparente.

En resumen, los niños de 2 años están más expuestos según las matrices analizadas en el laboratorio y estudiadas en el supermercado a estevia y sucralosa, por el consumo de jugos, yogurt y bebidas de fantasía. Por otro lado, los niños de 3 a 9 años se ven

más expuestos a ACE-K y ASP, por el mayor consumo de bebidas de fantasía y jugos o néctares.

**5.6. Cálculo de la máxima cantidad de porciones que pueden consumir por día los niños pequeños y los niños, de las matrices analizadas en el laboratorio y del estudio de rótulo en el supermercado.**

Se realizó el cálculo de consumo máximo de producto por porción y por día de las matrices tanto determinadas en el laboratorio como las estudiadas en el supermercado, de manera de evaluar con cuantas cantidades expresadas en porción de consumo de los productos estudiados, los niños de 2 años y los niños de 3 a 9 años podrían superar la IDA; al respecto, se debe considerar que, hay productos que usan más de un edulcorante, por lo que, en este ejercicio, el consumo estará limitado por el edulcorante que supere la IDA con la menor cantidad de producto por porción. Las Tablas 38 y 39 muestran las cantidades máximas de productos por porción que los niños de 2 y 3 a 9 años, respectivamente, podrían consumir sin superar la IDA.

**Tabla 38.** Número máximo de porciones de producto que puede consumir por día un niño de 2 años, sin sobrepasar el IDA respectivo por aditivo.

Producto	N° Porciones máximas de producto con ACE-K	N° Porciones máximas de producto con SUC	N° Porciones máximas de producto con ASP	N° Porciones máximas de producto con estevia	Cantidad de porciones máximas por día
<b>Jugo 200 mL</b>	15	7	9	1	1
<b>Leche 200 mL</b>	No utiliza	13	No utiliza	3	3
<b>Galleta dulce 30 g</b>	No utiliza	No utiliza	No utiliza	9	9

<b>Cereal 30 g</b>	No utiliza	17	No utiliza	14	14
<b>Barras de cereal 15 g</b>	No utiliza	84	No utiliza	3733	84
<b>Bebidas fantasía 200 mL</b>	6	5	3	No utiliza	3
<b>Jugo en polvo 200 mL</b>	6	13	7	No utiliza	6
<b>Yogurt 125 g</b>	No utiliza	15	No utiliza	6	6

**Tabla 39.** Número máximo de porciones de producto que puede consumir por día un niño de 3 a 9 años, sin sobrepasar el IDA respectivo por aditivo.

<b>Producto</b>	<b>N° Porciones máxima de producto con ACE-K</b>	<b>N° Porciones máxima de producto con SUC</b>	<b>N° Porciones máxima de producto con ASP</b>	<b>N° Porciones máxima de producto con estevia</b>	<b>Cantidad de porciones máximas por día</b>
<b>Jugo 200 mL</b>	28	14	17	2	2
<b>Leche 200 mL</b>	No utiliza	26	No utiliza	5	5
<b>Galleta dulce 30 g</b>	No utiliza	No utiliza	No utiliza	18	18
<b>Cereal 30 g</b>	No utiliza	32	No utiliza	27	27
<b>Barras de cereal 15 g</b>	No utiliza	162	No utiliza	7200	7200

<b>Bebidas fantasía 200 mL</b>	13	10	7	No utiliza	7
<b>Jugo en polvo 200 mL</b>	13	25	13	No utiliza	13
<b>Yogurt 125 g</b>	No utiliza	29	No utiliza	12	12

Al analizar la Tabla 38 y 39, esta no pretende ser parte de una guía de alimentación para un niño pequeño de 2 años o para un niño de 3 a 9 años, más bien, estas Tablas proporcionan una orientación de cuantas porciones podría comer como máximo un niño de 2 y de 3 a 9 años de peso promedio 14 kg y 27 kg, respectivamente, sin superar la IDA del o los aditivos que se utilizan en el producto. Llama la atención que un niño de 2 años con las condiciones de este estudio, puede tomar como máximo una cajita de jugo de 200 mL, que contiene la mayor concentración de estevia de las marcas muestreadas, por lo que, se podría inferir que el niño de 2 años se ve muy expuesto a superar la IDA establecida como segura de la estevia si consume 1 cajita de jugo y cualquier otro producto que contenga estevia como los descritos en la Tabla 38. Para el caso de los niños de 3 a 9 años de edad (Tabla 39) el jugo también es una limitante, tal como, para el niño de 2 años, sin embargo, al tener más peso corporal los niños de 3 a 9 años pueden tomar 2 cajitas de jugo al día y al consumir cualquier otro producto que contenga estevia superarían su IDA. Respecto a galleta dulce, cereal y barras de cereal resultaron los productos que más porciones pueden consumir los niños de 2 años y de 3 a 9 años, al tener estos productos menos concentración de edulcorantes, sin embargo, no son productos que pueda consumir un niño libremente, ni transformarse en su base de alimentación.

## VI. DISCUSIÓN

Se desarrolló una metodología validada en leches saborizadas y néctares de fruta mediante el uso de HPLC-MS/MS, con una mínima preparación de extracción. La metodología validada tiene la ventaja sobre métodos convencionales reportados para la determinación de edulcorantes como es el caso de HPLC-UV, que es una técnica mucho más sensible, selectiva, no presenta problemas de interferentes, se puede obtener en una misma corrida cromatográfica todos los edulcorantes en estudio, sin la necesidad de derivatización de algunos de ellos. La técnica HPLC-UV no es adecuado para la determinación de ciclamato debido a la falta de cromóforo UV en su molécula. Se necesitan algunos procedimientos complicados y que requieren mucho tiempo para la detección de absorbancia de este edulcorante en HPLC, del mismo modo, la sucralosa no se absorbe en el rango UV/visible, lo que dificulta la detección sensible y específica mediante absorción directa de UV y es necesario un procedimiento de derivatización (Idris, 2010, Zygler, 2009). Por otro lado, la cromatografía líquida en masas tándem se ha vuelto una herramienta potente para la identificación de aditivos, entre los que figuran los edulcorantes, en matrices alimentarias complejas, considerando los interferentes que pueden existir (Chang, 2014).

Se espera en un futuro, poder ampliar las matrices validadas, para poder abarcar la totalidad de las muestras con edulcorantes presentes en el mercado nacional, así como considerar incluir nuevos edulcorantes en la determinación, como el caso de la estevia, que está actualmente siendo muy utilizada por la industria y posee una IDA baja comparada con los edulcorantes estudiados en esta tesis, y podría la población infantil estar en riesgo de superar la ingesta diaria admisible como segura.

Del análisis de las muestras obtenidas en el supermercado para ser determinadas mediante HPLC-MS/MS, para el caso de las leches utilizadas (chocolatadas), cuatro de las cinco marcas muestreadas declararon utilizar dos edulcorantes distintos. Para el caso de los néctares de fruta (sabor manzana) tres de las cinco marcas declararon utilizar dos edulcorantes y una marca utilizó tres edulcorantes.

La tendencia del uso de más de un edulcorante ya había sido descrita y se explica, porque algunos de los edulcorantes imparten sabores y postgustos que pueden limitar sus aplicaciones en alimentos y bebidas. Simultáneamente (debido al efecto sinérgico), aumenta el poder edulcorante de la mezcla. Las mezclas de edulcorantes formuladas

adecuadamente pueden reproducir con precisión la textura y el perfil de dulzor de los productos tradicionales que contienen azúcar, crear nuevos productos caracterizados por un perfil de dulzor original y mejorar la estabilidad del sabor (Zygler, 2009). Por otro lado, al usar mezclas se está exponiendo al organismo a más de un edulcorante, y es necesario mayor cantidad de estudios para evaluar si afecta al organismo el consumir más de un edulcorante en un mismo producto de manera simultánea.

En la actualidad, el RSA no establece un límite máximo permitido para edulcorantes, solo establece que no superen la IDA. El RSA sí indica en su Artículo 138.- En los casos en que se incorporen en un alimento dos o más aditivos con una misma función, a los cuales se les haya asignado concentraciones máximas, la suma de las concentraciones empleadas, no podrá ser superior a la concentración máxima autorizada para aquel aditivo al cual se le ha fijado la concentración más alta, respetando las máximas individuales de cada uno de los aditivos empleados (RSA,2023). El año 2023 salió a consulta pública una modificación del RSA la que establecerá niveles máximos para estos aditivos armonizando la normativa por Categorías de Alimentos y Límites Máximos de uso de aditivos alimentarios, establecidos por el Codex Alimentarius y la regulación de Aditivos de la Unión Europea, con el fin de garantizar y establecer criterios más claros y detallados en relación con las medidas de inocuidad adoptadas a nivel nacional en materia de aditivos alimentarios, para proteger la salud de la población. Resulta muy importante el incorporar límites máximos permitidos (LMP) en los edulcorantes, por las razones ya indicadas. Con la metodología desarrollada, cuando ya exista la modificación al RSA respecto de los LMP, se podrán verificar el cumplimiento de estos.

Respecto de las concentraciones analíticas obtenidas para leches líquidas chocolatadas y néctares de manzana, comparadas con las concentraciones declaradas por los fabricantes, se corrobora que hay una concordancia con los valores, ya que solo uno de los casos analizados arrojó un valor ligeramente superior al declarado (leche chocolatada), no obstante, al aplicar la incertidumbre calculada, el valor declarado se encuentra dentro del rango de valores que podrían ser obtenidos, y por tanto, todas las muestras estarían admisibles, si se buscara corroborar el valor declarado analíticamente. Además, los edulcorantes declarados corresponden con los encontrados analíticamente y en el caso de edulcorantes no declarados, estos fueron informados como menores al límite de cuantificación del método (No detectables). Por

lo tanto, se corrobora que lo encontrado analíticamente corresponde con lo declarado y los valores cuantificados en la mayoría de los casos son inferiores a los declarados. Además, se puede decir que las marcas muestreadas no inducen a error al consumidor respecto de lo declarado en el rótulo, para los edulcorantes utilizados y las concentraciones de cada uno declaradas.

De los edulcorantes analizados, las matrices leches líquidas y néctares no utilizan ciclamato ni sacarina como edulcorantes, tampoco se registró el uso de estos ENN en el levantamiento del rótulo realizado para otras matrices en el supermercado. De acuerdo a Zyglar (2009), esto podría deberse a que el ciclamato se metaboliza a ciclohexilamina, por las bacterias intestinales, compuesto tóxico considerado como posible cancerígeno, por lo que, es cada vez más restringido su uso. Respecto de la sacarina, es el edulcorante no nutritivo con más bajo IDA, y posee una ligera contaminación ácida por lo que debe mezclarse con ciclamatos y aspartamo. Caroch (2017), establece que esta podría ser la razón de que cada vez se esté utilizando menos. Respecto de la evaluación de exposición para niños de 2 años y de 3 a 9 años se encontró que para estevia y sucralosa los niños de 2 años se ven más expuestos que los niños del rango de 3 a 9 años, esto podría ser explicado porque la IDA es calculada por peso y los niños de 2 años pesan menos que los del rango de 3 a 9 años. Para sucralosa en niños de 2 años la mayor contribución porcentual del IDA lo tuvieron las matrices de bebida de fantasía y yogurt, con un 5,3 % para ambas, en el caso de la estevia la mayor contribución porcentual del IDA para niños de 2 años fue para la matriz néctar con un 27,5 % y con una contribución total de las matrices con estevia del 56%. En el caso de los niños de 3 a 9 años, se observa que se ven más expuestos a ACE-K y ASP, esto debido a que el consumo diario referenciado en el estudio de ACHIPIA, es mayor para este rango etario, por lo que, contribuye más a la exposición y esto corresponde a las matrices jugo o néctar con una contribución porcentual del IDA de 8,1% y bebidas de fantasía con una contribución porcentual del IDA de 9,9%, para ACE-K y ASP respectivamente.

Llama la atención el caso de la estevia para niños de 2 años considerando que este estudio solo considera algunas matrices alimentarias y que los datos de consumo son del 2010, puede haber cambiado el consumo de este grupo etario, por lo que, la exposición podría superar la IDA si se estudian más matrices alimentarias. Además,

respecto de la razón de riesgo que tiene relación con la exposición y la IDA, es aproximada a 1 para niños de 2 años, con lo que no es posible descartar el riesgo de consumo de este edulcorante, que posee la IDA más baja de todos los edulcorantes estudiados para la evaluación de exposición. Para el resto de los ENN evaluados, se observa que no se supera la IDA para ningún grupo etario, en el escenario más pesimista expuesto, respecto de la selección por matrices del edulcorante que posee la mayor concentración y, por lo tanto, debería tener una mayor exposición, estos resultados concuerdan con otros estudios previos realizados en Chile (Martinez, 2020, Hargous, 2020, Barraji, 2021, Rebolledo, 2022 y ACHIPIA, 2021).

Si bien no se han superado las IDAs en esta investigación, esto no significa que esté totalmente libre de riesgo el uso de edulcorantes, es necesario realizar mayores estudios y evaluaciones del impacto de los edulcorantes en el organismo en el tiempo.

Actualmente, no existen límites máximos permitidos en el RSA que pudiesen regular el uso de edulcorantes en los productos alimenticios. La Norma General de Aditivos Alimentarios del Codex establece que el objetivo principal de establecer dosis máximas de uso para los aditivos alimentarios en diversos grupos de alimentos es asegurar que la ingestión de un aditivo procedente de todos sus usos no exceda de su IDA (NGAA, 2023), por lo que, si se establecen límites o dosis máximas de uso se podrá garantizar al consumidor que el alimento que está consumiendo no posee el aditivo en exceso y si se utiliza más de un edulcorante en un producto al estar limitada su concentración se utilizará cumpliendo la normativa. El RSA, como antes se mencionó solo utiliza las IDAs y en el caso de los edulcorantes las IDAs son para cada edulcorante por separado, entonces se desconocen los efectos de la combinación e interacción de los ENN en términos de niveles de ingesta seguros (Rebolledo, 2022).

En el estudio de evaluación de exposición es importante considerar, que los datos de la exposición a ACE-K, ASP y SUC, así como los de estevia de manera teórica, fueron analizados únicamente a partir de los alimentos muestreados y analizados en el laboratorio, así como algunas otras matrices estudiadas en el supermercado, que no representan el total de los alimentos que contienen estos edulcorantes, disponibles en el mercado y/o preparados en casa y consumidos por los grupos etarios en estudio. Si bien los néctares y leches son una de las principales fuentes de consumo en niños y niños pequeños, el valor estimado de exposición dietaría podría estar subestimado al

no considerar ingestas en una dieta estándar de la población infantil como: frutas en conserva, compotas, postres, helados, edulcorantes de mesa, jaleas, dulces, yogurt tipo prebiótico, chocolates, panes envasados, queques, etc. Por esta razón, se amplió el estudio incorporando algunas otras matrices de manera teórica, es decir sin analizar en el laboratorio y considerando lo declarado por el fabricante, sin embargo, no cubre la totalidad de los productos que pueden contener edulcorantes y ser consumidos por el grupo etario en estudio, como se mencionó anteriormente.

Otra fuente de incertidumbre, corresponde a los datos de consumo utilizados en la presente tesis para la evaluar la exposición dietaria a los edulcorantes en estudio, correspondientes a datos de ACHIPIA 2021, los cuales se basan en los resultados de la encuesta ENCA 2010, que corresponden a patrones de consumo poblacional que dada su antigüedad, posiblemente han variado significativamente en este período, por razones desde cambios sociodemográficos, culturales e incluso implementaciones de políticas públicas como son por ejemplo la Ley 20.606 de etiquetado y publicidad de alimentos (2016). Además de los datos de consumo, los datos utilizados de peso promedio de los niños de 2 años y los del rango 3 a 9 años de edad pudo haber cambiado en más de 13 años desde que se realizó la encuesta, además puede ser muy amplio el rango de 3 a 9 años y el peso no representar bien a ese sector de la población. Por lo que, se hace necesaria una actualización de la ENCA que sea representativo del consumo de la población en la actualidad.

Otro factor a considerar corresponde a la representatividad de los datos de las diferentes categorías alimentarias, que corresponde únicamente a la diversidad de muestras disponibles en el comercio en un sector muy acotado de la Región Metropolitana. En este sentido, para la real estimación de la exposición, es importante conocer la diversidad de productos y marcas y puntos de venta que la población infantil ingiere cotidianamente a lo largo de todo el territorio nacional.

Se realizó un estudio de las cantidades máximas de productos por porción para evaluar si los niños de 2 y de 3 a 9 años superan la IDA de cada uno de los ENN presentes en el producto y considerados en este estudio. Como se mencionó al calcular las cantidades máximas de consumo, no se pretende establecer una guía de alimentación, pues eso es algo más complejo que requiere un conocimiento más acabado en cuanto a nutrición y saber además el consumo actual de la población respecto a las matrices

estudiadas, esta información pretende servir de orientación para tener una noción de hasta cuantas porciones máximas por producto, y respecto de cada aditivo, se podría consumir al día, sin superar la IDA, sin considerar el efecto sumativo de la ingesta de otros alimentos que pudieran contener el mismo aditivo. Llamó la atención en ambos grupos etarios (Tablas 37 y 38) que al consumir productos que tengan estevia (en las más altas concentraciones de las matrices analizadas, en especial bebidas como leches o jugos), se podría fácilmente superar la IDA. A partir de este análisis, se puede sugerir, como primera recomendación, evitar el consumo de edulcorantes en los niños pequeños de 2 años y los niños de 3 a 9 años de edad, para evitar el riesgo potencial de superar las IDA y, como segunda recomendación, considerando que existen muy pocas alternativas en el mercado que estén libres de edulcorantes en su formulación, revisar la declaración de contenido de estos, prefiriendo aquellos que tengan menor concentración de edulcorantes en las marcas; para esto, sería necesario realizar una fuerte campaña en la población para lograr la concientización de los consumidores.

Si bien no se cumple a totalidad la hipótesis planteada en esta tesis, pues se logra desarrollar una metodología validada para la identificación y cuantificación de ENN en matrices de leche líquida y néctares de fruta destinados al consumo infantil, que permite verificar el cumplimiento de la normativa nacional e internacional, tal como se evaluó en los puntos anteriores del estudio. No se cumple que los niños de 2 años y de 3 a 9 años superen la IDA establecida como segura al consumir más de un producto que contenga ENN. Sin embargo, esto se puede explicar debido a las fuentes de incertidumbre descritas arriba para la evaluación de exposición, con datos de consumo actualizados y ampliando la cantidad de matrices pesquisadas y los lugares de muestreo para la representatividad se esperaría que en un nuevo estudio las IDAs fueran potencialmente mayores e incluso fueran superadas, específicamente para los edulcorantes más utilizados, estos son, sucralosa y estevia, en el grupo etario de niños pequeños.

## VII. CONCLUSIONES

- Se logró desarrollar una metodología validada para la determinación de ACE-K, SAC, CYC, ASP y SUC en las matrices leche líquida chocolatada y néctares de fruta sabor manzana, en un rango de concentración que abarca la cuantificación de potenciales niveles máximos, con la inminente modificación al RSA de acuerdo con Codex.
- Con la metodología validada se corrobora analíticamente que las concentraciones determinadas en el laboratorio son similares o iguales a las declaradas en el etiquetado de los productos, para los ENN evaluados.
- Respecto de la reglamentación nacional los néctares de fruta y leches chocolatadas cumplen con lo exigido por el RSA para el uso de edulcorantes, descrito en su artículo 146.
- El análisis de la reglamentación internacional, respecto de Codex Alimentarius, muestra que ninguna de las dos matrices analizadas supera los límites máximos establecidos por Codex para cada edulcorante en estudio y por categoría de alimento, por lo que, las marcas muestreadas cumplirían con la reglamentación internacional y con la implementación de la modificación del RSA.
- De la evaluación de exposición se puede concluir que el grupo etario de 2 y de 3 a 9 años no superan la IDA establecida como segura para ninguno de los edulcorantes en las matrices alimentarias estudiadas, sin embargo, para el edulcorante estevia la razón de peligrosidad para niños de 2 años resultó muy cercana a 1, por lo que, es un grupo que se debe poner mayor atención en evaluaciones futuras.
- De esta tesis se concluye que los niños de 2 años están más expuestos según las matrices analizadas en el laboratorio y estudiadas en el supermercado a estevia y sucralosa, por el consumo de jugos, yogurt y bebidas de fantasía. Por otro lado, los niños de 3 a 9 años se ven más expuestos a ACE-K y ASP, por el mayor consumo de bebidas de fantasía y jugos o néctares.
- Del análisis de cantidades máximas de productos por porción que puede un niño consumir diariamente sin superar la IDA establecida, se obtiene que habría

mayor riesgo de superar la IDA al consumir productos líquidos con estevia, para los dos grupos etarios estudiados en la tesis.

## VIII. RECOMENDACIONES

- En esta tesis para el grupo etario en estudio no se superan las IDAs, sin embargo, se concluye que, dado la evidencia científica que el uso de ENN no es beneficioso para la población infantil, se deberían realizar políticas públicas para provocar un cambio en el consumo destinado a la población infantil.
- Resulta sumamente importante que se modifique el Título III sobre Aditivos Alimentarios en el RSA respecto de Codex, que permitan regular el uso de estos aditivos, sobre todo a la población más expuesta, niños pequeños, niños y embarazadas, para garantizar que las IDAs no se superen.
- Dado el aumento de consumo de edulcorantes posterior a la Ley 20606, resulta necesario actualizar los datos de consumo por día de la población chilena, pues, no se puede descartar el riesgo de exposición para algunos segmentos de la población infantil en caso de ciertos edulcorantes, como se puede desprender de esta tesis.
- La obesidad es un problema mundial y la población infantil ha ido en aumento respecto de esta enfermedad, se incentiva y enfatiza a que los niños reduzcan el consumo de alimentos con altos contenidos de azúcares añadidos y grasas, así como también que modifiquen su conducta, aumentando la actividad física, reduciendo el tiempo que pasan frente a la televisión, video juegos y computadora. Estos cambios de conducta acompañados de políticas públicas orientadas a la población de riesgo ayudarán a combatir los problemas de obesidad.
  - Por último, para disminuir el consumo de edulcorantes se incentiva:
    - ✚ A la industria, a reducir el uso de éstos en sus formulaciones y a disminuir el umbral de dulzor.
    - ✚ Al gobierno, a educar a la población respecto de elegir los productos más saludables para el consumo, para que la población se acostumbre a consumir productos menos dulces en vez de igualar el dulzor con edulcorantes.
    - ✚ En casa, a que se motive a consumir productos naturales, sin tanto procesamiento, a que se reduzca el consumo de azúcar y se elija endulzar con productos naturales como vainilla o canela para infusiones o plátanos, dátiles para repostería.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

1. ACHIPIA. Evaluación exposición dietaria crónica a edulcorantes en alimentos consumidos por la población chilena. Evaluación de Riesgo, 2021.
2. Ahumada D., Paredes C., Abella J., González I. Validación de Métodos en Análisis Químico Cuantitativo. Instituto Nacional de Metrología de Colombia. Primera edición, abril de 2023.
3. Barraj L., Bi X., Tran N. Screening level intake estimates of low and no-calorie sweeteners in Argentina, Chile, and Peru, Food Additives & Contaminants: Part A, 2021, 38:12, 1995-2011, DOI: 10.1080/19440049.2021.1956692.
4. Bergamo, A.B., Da Silva, J.A.F. and De Jesus, D.P., 2011. Simultaneous Determination of Aspartame, Cyclamate, Saccharin and Acesulfame-K in Soft Drinks and Tabletop Sweetener Formulations by Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. Food Chemistry, 124, 1714-1717.
5. Bentley Alexander, Ruck Damian, Fouts Hillary, 2020. U.S. obesity as delayed effect of excess sugar. Economics and Human Biology 36, 100818.
6. Chang Chui-Shiang, Yeh Tai Sheng, 2014. Detection of 10 sweeteners in various foods by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of Food and Drug Analysis, 22, 318-328.
7. Chen L., Zhang Y., Zhou Y., Shi D., Feng X. Sweeteners in food samples: An update on pretreatment and analysis techniques since 2015. Food Chemistry 408 (2023) 135248.
8. Drewnowski, A., Fulgoni III, V., 2008. Nutrient profiling of foods: creating a nutrient-rich food index. Nutr. Rev. 66 (1), 23–39.
9. Dewinter Louise, Casteels Kristina, Corthouts Karen, Van de Kerckhove Kristel, Van der Vaerent katrien, Vanmeerbeeck Kelly & Matthys Christophe. 2016. Dietary intake of non-nutritive sweeteners in type 1 diabetes mellitus children. Food Additives & Contaminants: part a, vol. 33, NO. 1, 19–26.
10. Duran Samuel, Quijada María, Silva Loreto, Almonacid Nazarena, Berlanga María, Rodríguez María. 2011. Daily consumption levels of non-nutritive

sweeteners in school age children from the valparaiso region. Rev Chil Nutr Vol. 38, N°4.

11. Edwards C., Rossi M., Corpe C., Butterworth P., Ellis P. The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. Trends in Food Science & Technology 56 (2016) 158-166.
12. ENCA, 2010. Encuesta Nacional de Consumo Alimentario. Departamento de Nutrición, Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina y Centro de Microdatos, Facultad de Economía y Negocios, Universidad de Chile.
13. ENS 2016-2017. 2017. Encuesta Nacional de Salud 2016-2017 primeros resultados. Santiago, Chile: Departamento de Epidemiología, División de Planificación Sanitaria, Subsecretaría de Salud Pública.
14. FDA. Guidelines for the Validation of Chemical Methods for the FDA Foods Program, 3rd Edition, 2019.
15. Food and Drug Administration, "Methods, Method Verification and Validation", Laboratory Manual, ORA Laboratory Procedure, Volume II, ORA-LAB.5.4.5.
16. Gómez-Vázquez HM., La paradoja de los endulzantes sin calorías. Med Int Méx. 2017 marzo;33(2):204-208.
17. Hargous CV, Reyes M, Taillie LS, González CG, Corvalán C. Consumption of non-nutritive sweeteners by pre-schoolers of the food and environment Chilean cohort (FECHIC) before the implementation of the Chilean food labelling and advertising law. Nutr J. 2020, 5;19(1):135.
18. Hasnain S.R, Singer M.R, Bradlee M.L y Moore L.L., 2014. Beverage Intake in Early Childhood and Change in Body Fat from Preschool to Adolescence. CHILDHOOD OBESITY, Volume 10, Number 1. DOI: 10.1089/chi.2013.0004.
19. Humphries P, Pretorius E, and Naude´ H., 2008. Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain. European Journal of Clinical Nutrition 62, 451–462.
20. Koch Pamela, Contento Isobel, Gray heewon, Burgermaster Marissa, Bandelli Lorraine, Abrams Emily, Di Noia Jennifer. Food, Health, & Choices: Curriculum and Wellness Interventions to Decrease Childhood Obesity in Fifth-Graders. 2019. Journal of Nutrition Education and Behavior, Volume 51, Number 4.

21. Idris, M., Srivastava, S., Baggi, T. R., Shukla, S. K., & Ganjoo, A. K. (2010). Rhodamineesulphuric acidea new visualization reagent for the determination of sucralose by HPTLC. *E-Journal of Chemistry*, 7, 559-565.
22. (JECFA)-FAO/WHO, E. C. (14 de Julio de 2023). Resumen de las conclusiones de la evaluación del aspartamo en la 134.a reunión del Programa de Monografías del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC), 6 a 13 de junio de 2023 y de la 97.a reunión del Comité Mixto FAO/OMS de E. Obtenido de [https://www.who.int/es/publications/m/item/summary-of-findings-of-the-evaluation-of-aspartame-at-the-international-agency-for-research-on-cancer-\(iarc\)-monographs-programme-s-134th-meeting--and-the-joint-fao-who-expert-committee-on-food-additives-\(jecfa\)-](https://www.who.int/es/publications/m/item/summary-of-findings-of-the-evaluation-of-aspartame-at-the-international-agency-for-research-on-cancer-(iarc)-monographs-programme-s-134th-meeting--and-the-joint-fao-who-expert-committee-on-food-additives-(jecfa)-)
23. Jia, W., Ling, Y., Lin, Y., Chang, J., Chu, X., 2014. Analysis of additives in dairy products by liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1336, 67–75
24. Jinadasa B.K., Elliott C., Yeh T. Recent applications of mass spectrometry in sweetener analysis. *Recent applications of mass spectrometry in sweetener analysis. Journal of Food Composition and Analysis* 122 (2023) 105418.
25. Li Jianjun, Liu Yun, Liu Qianping, Hui Junfeng, Liu Yangzi, 2017. On-cartridge derivatisation using matrix solid phase dispersion for the determination of cyclamate in foods. *Analytica Chimica Acta* 972, 46-53.
26. Li X., Li S., Li H., Wanga J., Luob Q., Yinb X., Quantification of artificial Sweeteners in alcoholic drinks using direct analysis in real-time QTRAP mass spectrometry. *Food Chemistry* 342 (2021) 128331.
27. Lim Ho-Soo, Park Sung-Kwan, Kwak In-Shin, Hyung-II Kim, Sung Jun-Hyun, Jang Su-Jin, Byun Mi-Youn, and Kim So-Hee. HPLC-MS/MS Analysis of 9 Artificial Sweeteners in Imported Foods. *Food Sci. Biotechnol.* 22(S): 233-240 (2013).
28. Luger Maria, Lafontan Max, Bes-Rastrollo Maira, Winzer Eva, Yumuk Volkan, Farpour-Lambert Nathalie. Sugar-Sweetened Beverages and Weight Gain in Children and Adults: A Systematic Review from 2013 to 2015 and a Comparison with Previous Studies. *Obes Facts* 2017; 10:674–693.

29. Magnusson B. and Örnemark U. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014).
30. ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
31. Martínez X., Zapata Y., Pinto v., Cornejo C., Elbers M., Van der Graaf M., Villarroel L., Hodgson M.I, Rigotti A., Echeverría G. Intake of Non-Nutritive Sweeteners in Chilean Children after Enforcement of a New Food Labeling Law that Regulates Added Sugar Content in Processed Foods. *Nutrients*, 2020, 12(6):1594.
32. Mattes R., Tan S., and Tucker R. Sweeteners: Sensory properties, digestion, consumption trends, and health effects. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 4th edition, Volume 2
33. México. (05 de 11 de 2021). Recuperado el septiembre de 2023, de Gobierno de México Hablemos de salud: <https://www.gob.mx/promosalud/acciones-y-programas/etiquetado-de-alimentos#:~:text=En%20México%2C%20el%20etiquetado%20para,que%20deben%20contener%20dichos%20productos>.
34. Mortensen A. Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. *Scand J Food Nutr* 2006; 50:104-16.
35. Oktavirina, V.; Prabawati, N.B.; Fathimah, R.N.; Palma, M.; Kurnia, K.A.; Darmawan, N.; Yulianto, B.; Setyaningsih, W. Analytical Methods for Determination of Non-Nutritive Sweeteners in Foodstuffs. *Molecules* 2021, 26, 3135.
36. OMS, 1987. World Health Organization. Environmental Health Criteria 70: Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Geneva.
37. OMS, 1991. Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series No 806.
38. OMS, 1993. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, No. 837.

39. OMS, 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint WHO/FAO Expert Consultation. World Health Organization Technical Report Series. (916).
40. OMS, 2015. World Health Organization. Guideline: Sugars Intake for Adults and Children.
41. Raposo F., Ibelli-Bianco C. Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. Trends in Analytical Chemistry 129 (2020) 115913.
42. Rebolledo N., Reyes M., Popkin B., Adair L., Avery C., Corvalán C., Wen S., Smith L. Changes in nonnutritive sweetener intake in a cohort of preschoolers after the implementation of Chile's Law of Food Labelling and Advertising. Pediatric Obesity, 2022, 17(7), 1-12.
43. Renwick A.G., Thompson J.P., O'Shaughnessy M., and Walter E.J. 2004. The metabolism of cyclamate to cyclohexylamine in humans during long-term administration. Toxicology and Applied Pharmacology 196, 367– 380.
44. Resolución 744 EXENTA. 2009. Aprueba normas técnicas sobre directrices nutricionales que indica, para declarar propiedades saludables de los alimentos. Establecido en el artículo 106 número 9 y artículo 114, del decreto supremo N°977/96, Reglamento Sanitario de los Alimentos.
45. Roberts Jason, 2015. The Paradox of Artificial Sweeteners in Managing Obesity. Curr Gastroenterol Rep 17:423.
46. Rother Kristina, Conway Ellen and Sylvetsky Allison, 2018. How Non-nutritive Sweeteners Influence Hormones and Health. Trends in Endocrinology & Metabolism, vol. 29, No 7.
47. RSA. 2024. Reglamento Sanitario de los Alimentos DTO N°977/96. Santiago, Chile. Actualizado en mayo de 2024.
48. Serra-Majem Lluís, Raposo Antonio, Aranceta-Bartrina Javier, Varela-Moreiras Gregorio, Logue Caomhan, Laviada Hugo, Socolovsky Susana. 2018. Ibero-American Consensus on Low- and No-Calorie Sweeteners: Safety, Nutritional Aspects and Benefits in Food and Beverages. Nutrients, 10, 818.
49. Samaniego-Vaesken M.L., Partearroya T., Canob A., Urrialdec R., Varela-Moreiras G., 2019. Novel database of declared low- and no-calorie sweeteners

from foods and beverages available in Spain. *Journal of Food Composition and Analysis* 82, 1-7.

50. Serra-Majem, L., García-Closas, R., Ribas, L., Pérez-Rodrigo, C., Aranceta, J., 2001. Food patterns of Spanish schoolchildren and adolescents: the enKid Study. *Public Health Nutr.* 4 (6a), 1433.
51. Scheurer Marco & Heinz-J. Brauch & Frank T. Lange, 2009. Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Anal Bioanal Chem* 394:1585–1594.
52. Silva Patrícia, Cruz Rebeca, Casal Susana. 2020. Sugars and artificial sweeteners in soft drinks: A decade of evolution in Portugal. *Food Control* 120 (2021) 10748.
53. Soyseven M., Sezgin B., Arli G. The development and validation of a novel, green, sustainable and eco-friendly HPLC-ELSD method approach for the simultaneous determination of seven artificial sweeteners in various food products: An assessment of the greenness profile of the developed method with an analytical eco-scale, NEMI, GAPI and AGREE. *Microchemical Journal* 193 (2023) 109225.
54. Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O. 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514, 181-186.
55. Swithers-Susan, E. (2013). Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends Endocrinology Metabolism*, 24, 431–441.
56. Sylvetsky, A.C., Rother, K.I., 2016. Trends in the consumption of low-calorie sweeteners. *Physiol. Behav.* 164, 446–450.
57. Sylvetsky Allison, Rother Kristina and Brown Rebecca. 2011. Artificial sweetener use among children: epidemiology, recommendations, metabolic outcomes, and future directions. *Pediatr Clin North Am.* 58(6): 1467–1480. doi:10.1016/j.pcl.2011.09.007.
58. Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 23, No. 8, 2004.

59. Tighrinea Abderrahmane, Amira Youcef, Alfaro Pilar, Mamouc Marzouk, Nerin Cristina. 2019. Simultaneous extraction and analysis of preservatives and artificial sweeteners in juices by salting out liquid-liquid extraction method prior to ultra-high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 277, 586–594.
60. Wu M., Qian Y., Boyd J.M., Hrudey S.E., Le X.C, Li Xing-Fang., 2014. Direct large volume injection ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of artificial sweeteners sucralose and acesulfame in well water. *Journal of Chromatography A*, 1359, 156-161.
61. Yu S., Zhu B., Lv F., Li s., Huang W. Rapid analysis of cyclamate in foods and beverages by gas chromatography-electron capture detector (GC-ECD). *Food Chemistry* 134 (2012) 2424–2429.
62. Zacarías I, Vera G. 2005. Selección de Alimentos, Uso del Etiquetado Nutricional para una Alimentación Saludable. Manual de consulta para profesionales de la salud, Santiago, Chile.
63. Zhao X., Yanb J., Chenb K., Songb L., Sunb B., Weib X., 2018. Effects of saccharin supplementation on body weight, sweet receptor mRNA expression and appetite signals regulation in post-weanling rats. *Peptides* 107, 32–38.
64. Zygler A., Wasik A., Namiesnik J., 2009. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 28, No. 9.

## ANEXOS.

Anexo 1. Fotos de leche chocolatada y jugos tipo néctar de manzana, comprados en los supermercados.



Figura 20. Muestras de Leche chocolatada marca Milo, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo los tres lotes seleccionados.





**Figura 22.** Muestras de Leche chocolatada marca Trencito, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo los tres lotes seleccionados.



**Figura 23.** Muestras de Leche chocolatada marca Shake Shake, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo los tres lotes seleccionados.



Figura 24. Muestras de Leche chocolatada marca Lonco Leche, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo los tres lotes seleccionados.



Figura 25. Muestras de Néctar de manzana marca Del Valle, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo dos lotes seleccionados.



Figura 26. Muestras de Néctar de manzana marca Vivo, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo tres lotes seleccionados.



Figura 27. Muestras de Néctar de manzana marca Watts, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo tres lotes seleccionados.



Figura 28. Muestras de Néctar de manzana marca ZUKO, arriba cara frontal, ingredientes e información nutricional, abajo tres lotes seleccionados.









#### **Anexo 4. Artículos del RSA**

**Artículo 213:** Leche saborizada es el producto obtenido a partir de la leche entera, parcialmente descremada o descremada pasteurizada, sometida a tratamiento UHT o esterilizada, a la que se ha adicionado saborizantes, aromatizantes, edulcorantes y estabilizantes autorizados en el presente reglamento con el objeto de obtener un producto con caracteres organolépticos diferentes.

**ARTÍCULO 485.-** Néctar de fruta es el producto pulposo o no pulposo, sin fermentar, pero fermentable, obtenido mezclando el jugo o zumo de fruta y/o toda la parte comestible de frutas maduras y sanas, concentrado o sin concentrar, con adición de agua y azúcares o miel, y aditivos autorizados.

**ARTÍCULO 146.-:** Sólo se permite usar los edulcorantes no nutritivos en uno o más de los siguientes alimentos:

- a) Alimentos para regímenes de control de peso.
- b) Alimentos libres, bajos o reducidos en azúcar o azúcares (mono y disacáridos).
- c) Alimentos libres, bajos o reducidos en calorías
- d) Alimentos libres, bajos o reducidos en grasas.

En la rotulación de los alimentos que contienen estos productos deberá indicarse en forma destacada su agregado como aditivo y la cantidad de edulcorante por porción de consumo habitual servida y por cada 100 g o 100 ml del producto listo para el consumo, señalando, además, para cada edulcorante utilizado los valores de ingesta diaria admisible (I.D.A.), en mg/kg de peso corporal, según recomendaciones de FAO/OMS.

Los edulcorantes de mesa, cualquiera sea su forma de presentación, deberán cumplir con la rotulación general y nutricional que establece este reglamento, indicando, además, la concentración por porción de consumo habitual y por cada 100 g o 100 ml y la I.D.A. correspondiente.

Adicionalmente, en caso de empleo de Aspartamo, se deberá indicar en forma destacada en la rotulación: “Fenilcetonúricos; contiene fenilalanina”. 140

Ninguna forma de bebidas o refrescos, tanto líquidos como en polvo para preparación, podrán contener más de 250 mg/litro de ácido ciclámico o de sus sales.

**ARTÍCULO 120.-** Para destacar las cualidades de cualquier tipo de alimento o producto alimenticio en cuanto a contenido energético (energía o calorías), grasa total, grasa saturada, grasa trans, colesterol, azúcar, azúcares, sodio, vitaminas, minerales, proteínas, ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), otros nutrientes y fibra dietética, sólo se permitirá el uso de los descriptores que se indican en el presente Reglamento.

El uso de un descriptor deberá ser seguido del nombre del respectivo nutriente, factor alimentario o de la palabra calorías o energía, según corresponda.

Se permite el uso de palabras en otro idioma o palabras de fantasía, que se asocien inequívocamente con características nutricionales, tales como light, diet, high, lite, low, delgadísimo, flakin y soft, entre otras, siempre que cumplan con los parámetros de alguno de los descriptores autorizados en el presente Reglamento

**Anexo 5.** Aditivos estabilizantes/espesantes permitidos según el RSA.

<b>Nº SIN</b>	<b>NOMBRE CODEX</b>	<b>SINONIMOS</b>	<b>LIMITE MAXIMO</b>
400	Acido algínico		BPF
401	Alginato de sodio	Sal de sodio del ácido algínico	BPF
402	Alginato de potasio	Sal de potasio del ácido algínico	BPF
403	Alginato de amonio	Sal de amonio del ácido algínico	BPF
404	Alginato de calcio	Sal de calcio del ácido algínico	BPF
405	Alginato de propilenglicol	Hidroxipropil alginato	BPF

**Figura 29.** Sustancias espesantes o estabilizantes autorizadas por el RSA.

406	Agar	Agar-Agar	BPF
407	Carragenina	Furcelano Agar danés	BPF
410	Goma de semilla de algarrobo	Goma garrofin Locust bean gum (LBG)	BPF
412	Goma guar		BPF
413	Goma tragacanto		BPF
414	Goma arabiga	Goma de acacia	BPF
415	Goma xantán	Goma xántica Goma Xanthan	BPF
416	Goma karaya	Goma esterculia	BPF
417	Goma tara		BPF
418	Goma gelán		BPF
419	Goma Ghatti	Goma india	BPF
440	Pectinas		BPF
457	Alfa-ciclodextrina	Ciclohexaamilosa	BPF
458	Gamma-ciclodextrina		BPF
459	Beta-ciclodextrina		BPF
460	Celulosa		
460 i	Celulosa microcristalina	Gel de celulosa	BPF
460 (ii)	Celulosa en polvo		BPF
461	Metilcelulosa		BPF
462	Etilcelulosa		BPF
463	Hidroxipropilcelulosa		BPF
464	Hidroxipropilmetilcelulosa		BPF
465	Metiletilcelulosa	Etilmetilcelulosa	BPF
466	Carboximetil celulosa sódica (CMC)	Goma de celulosa	BPF
467	Etil hidroxietil celulosa		BPF
468	Carboximetil celulosa sódica reticulada	Goma de celulosa reticulada	BPF

**Figura 30.** Continuación de sustancias espesantes o estabilizantes autorizadas por el RSA.

1400	Dextrinas	Almidón tostado blanco y amarillo	BPF
1401	Almidones tratados con ácido	Almidón acidificado	BPF
1402	Almidones tratados con alcali	Almidón alcalinizado	BPF
1403	Almidón blanqueado		BPF
1404	Almidón oxidado		BPF
1405	Almidón tratados con enzimas		BPF
1410	Fosfato de monoalmidón		BPF
1411	Glicerolato de dialmidón		BPF
1412	Fosfato de dialmidón		BPF
1413	Fosfato de almidón fosfatado		BPF
1414	Fosfato de dialmidón acetilado		BPF
1420	Acetato de almidón	Almidón acetilado	BPF
1422	Adipato de dialmidón acetilado		BPF
1423	Glicerolato de dialmidón acetilado		BPF
1440	Almidón hidroxipropilado		BPF
1442	Fosfato de dialmidón hidroxipropilado		BPF
1443	Glicerolato de dialmidón hidroxipropilado		BPF
1450	Almidón octenil succinato sódico	Octilensulfosuccinato sódico de almidón	BPF
1451	Almidón acetilado oxidado		BPF
1452	Almidón octenil succinato de aluminio		BPF

**Figura 31.** Continuación de sustancias espesantes o estabilizantes autorizadas por el RSA.

**Anexo 6.** Lista de los descriptores señalados en las letras b), c) y d) del Artículo 146 del RSA que se rigen por lo dispuesto en el artículo 120 del reglamento.

	DESCRIPTOR	CONDICION REQUERIDA
<b>CONTENIDO ENERGÉTICO/ ENERGÍA/ CALORÍAS</b>	<p>“LIBRE”  “NO CONTIENE”  “EXENTO”  “SIN”  “CERO”  “0”  “0%”  “NO TIENE”</p>	<p>La porción de consumo habitual contiene menos de 5 kcal.</p>
	<p>“BAJO APORTE”  “BAJO EN”  “BAJO CONTENIDO”  “BAJO”  “POCO”</p>	<p>La porción de consumo habitual contiene un máximo de 40 kcal.</p> <p>El valor absoluto de las calorías por porción o el concepto “menor o igual a 40 kcal por porción” podrá acompañar al descriptor.</p> <p>Para utilizar este descriptor en alimentos cuya porción de consumo habitual sea menor a 30 gramos, la condición del descriptor deberá ser cumplida en 50 gramos.</p>
	<p>“REDUCIDO”  “LIVIANO”  “MENOS”  “MENOR”</p>	<p>Las calorías del producto se han disminuido en una proporción igual o mayor al 25% respecto del alimento de referencia.</p> <p>El valor absoluto de las calorías y el número que informa el porcentaje de reducción efectuado, por porción, podrán acompañar al descriptor.</p> <p>Si en el alimento normal de referencia, el 50 % o más de las calorías provienen de la grasa total (lípidos totales), este descriptor sólo se aplica cuando ésta se reduce en una proporción igual o mayor a 50%.</p>
<b>GRASA TOTAL</b>	<b>DESCRIPTOR</b>	<b>CONDICIÓN REQUERIDA</b>

<b>(Lípidos totales)</b>	<b>"LIBRE"</b> <b>"NO CONTIENE"</b> <b>"EXENTO"</b> <b>"SIN"</b> <b>"CERO"</b> <b>"0"</b> <b>"0%"</b> <b>"NO TIENE"</b>	La porción de consumo habitual contiene menos de 0,5 g de grasa total
	<b>"BAJO APORTE"</b> <b>"BAJO EN"</b> <b>"BAJO CONTENIDO"</b> <b>"BAJO"</b>	<p>La porción de consumo habitual contiene un máximo de 3 g de grasa total.</p> <p>El valor absoluto de la grasa total por porción o el concepto "menor o igual a 3 g de grasa total por porción" podrá acompañar al descriptor.</p> <p>Para utilizar este descriptor en alimentos cuya porción de consumo habitual sea menor a 30 gramos, la condición del descriptor deberá ser cumplida en 50 gramos.</p>
	<b>"REDUCIDO"</b> <b>"LIVIANO"</b> <b>"MENOS"</b> <b>"MENOR"</b>	<p>La grasa del producto se ha disminuido en una proporción igual o mayor al 25% respecto del alimento de referencia.</p> <p>El valor absoluto de la grasa total y el número que informa el porcentaje de reducción efectuado, por porción, podrán acompañar al descriptor.</p>
	<b>EXTRAMAGRO</b>	Este descriptor es específico para cualquier tipo de carnes y pescados y sus derivados. Para utilizarlo, el alimento debe cumplir con contener por porción de consumo habitual y por cada 100 g, un máximo 5 g de grasa total, igual o menos de 2 g de grasa saturada e igual o menos de 95 mg de colesterol.
<b>AZÚCAR / AZÚCARES (MONO Y DISACÁRIDOS)</b>	<b>DESCRIPTOR</b> <b>"LIBRE"</b> <b>"NO CONTIENE"</b> <b>"EXENTO"</b> <b>"SIN"</b> <b>"CERO"</b> <b>"0"</b> <b>"0%"</b> <b>"NO TIENE"</b>	<b>CONDICIÓN REQUERIDA</b> La porción de consumo habitual contiene menos de 0,5 g de azúcar o azúcares según sea el caso.
	<b>"BAJO APORTE"</b>	Sin parámetros definidos por lo que NO se deberá utilizar.

**Figura 32.** Descriptores señalados en las letras b), c) y d) del Artículo 146 del RSA que se rigen por lo dispuesto en el artículo 120 del reglamento.

## **Anexo 7. Categorías de alimentos según NGAA.**

### **No. de categoría de alimento 14.1.3.1 Néctares de frutas:**

El néctar de fruta es el producto sin fermentar, pero fermentable que se obtiene añadiendo agua, con o sin adición de azúcar, miel, jarabes y/o edulcorantes al zumo (jugo) de fruta, el zumo (jugo) de fruta concentrado, los purés de fruta o purés de fruta concentrados o una mezcla de estos productos. Se le pueden añadir sustancias aromáticas, componentes volátiles, pulpa y células, todos los cuales deben proceder del mismo tipo de fruta y haberse obtenidos por medios físicos idóneos. Los productos pueden elaborarse a base de una fruta o una mezcla de frutas. Ejemplos: néctar de pera y néctar de melocotón.

### **No de categoría de alimento 01.1.4 Bebidas lácteas líquidas aromatizadas:**

Comprende todas las mezclas y las bebidas listas para el consumo a base de leche fermentada o sin fermentar, con aromatizantes y/o ingredientes alimentarios que imparten sabor, excluidas las mezclas de cacao (mezclas de cacao y azúcar de la categoría 05.1.1). Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, leche de chocolate, bebidas malteadas con chocolate, bebidas a base de yogur con sabor a fresa, bebidas obtenidas por las bacterias que producen el ácido láctico, bebidas a base de suero, y el lassi (líquido obtenido batiendo la leche cuajada formada a partir de la fermentación láctea y añadiendo azúcar o un edulcorante intenso).

**No. de Categoría de alimento 14.1.3 Néctares de frutas y hortalizas**

Aditivo	SIN	Año Adoptada	Dosis máxima	Notas
GLICÓSIDOS DE ESTEVIOL	960a, 960b, 960c, 960d	2011	200 mg/kg	26

**No. de Categoría de alimento 14.1.3.1 Néctares de frutas**

Aditivo	SIN	Año Adoptada	Dosis máxima	Notas
ACESULFAME DE POTASIO	950	2005	350 mg/kg	188
ÁCIDO ASCÓRBICO, L-	300	2005	BPF	
ÁCIDO CÍTRICO	330	2005	5000 mg/kg	
ÁCIDO MÁLICO, DL-	296	2005	BPF	
ASCORBATO DE CALCIO	302	2005	BPF	
ASCORBATO DE SODIO	301	2005	BPF	
ASPARTAMO	951	2005	600 mg/kg	191
BENZOATOS	210-213	2004	1000 mg/kg	13, 91 & 122
CICLAMATOS	952(i), (ii), (iv)	2005	400 mg/kg	17 & 122
DIÓXIDO DE CARBONO	290	2005	BPF	69

**No. de Categoría de alimento 14.1.3.1 Néctares de frutas**

Aditivo	SIN	Año Adoptada	Dosis máxima	Notas
FOSFATOS	338; 339(i)-(iii); 340(i)-(iii); 341(i)-(iii); 342(i)-(ii); 343(i)-(iii); 450(i)-(iii), (v)-(vii), (ix); 451(i), (ii); 452(i)-(v); 542	2005	1000 mg/kg	33, 40 & 122
PECTINAS	440	2005	BPF	
SACARINAS	954(i)-(iv)	2005	80 mg/kg	
SORBATOS	200, 202, 203	2005	1000 mg/kg	42, 91 & 122
SUCRALOSA (TRICLOROGALACTOSACAROSA)	955	2005	300 mg/kg	
SULFITOS	220-225, 539	2005	50 mg/kg	44 & 122
TARTRATOS	334, 335(ii), 337	2005	4000 mg/kg	45 & 128

**Figura 33.** Aditivos permitidos en la categoría 14.1.3 y sus subcategorías, según Codex Alimentarios.

**No. de Categoría de alimento 01.1.4 Bebidas lácteas líquidas aromatizadas**

Aditivo	SIN	Año Adoptada	Dosis máxima	Notas
ACESULFAME DE POTASIO	950	2019	350 mg/kg	478 & 188
ALGINATO DE PROPILENGLICOL	405	2017	1300 mg/kg	XS243
AMARANTO	123	2017	50 mg/kg	52
AMARILLO DE QUINOLEÍNA	104	2017	10 mg/kg	52
AMARILLO OCASO FCF	110	2008	300 mg/kg	52
ASPARTAMO	951	2019	600 mg/kg	478, 191 & 405
AZORRUBINA (CARMOISINA)	122	2017	150 mg/kg	52
AZUL BRILLANTE FCF	133	2008	150 mg/kg	52
CANTAXANTINA	161g	2011	15 mg/kg	52 & 170
CARAMELO II - CARAMELO AL SULFITO	150b	2017	2000 mg/kg	52 & 400
CARAMELO III - CARAMELO AL AMONIACO	150c	2009	2000 mg/kg	52
CARAMELO IV - CARAMELO AL SULFITO AMÓNICO	150d	2011	2000 mg/kg	52
CARMINES	120	2008	150 mg/kg	52 & 178
CAROTENOIDES	160a(i),a(iii),e,f	2017	150 mg/kg	52 & 402
CAROTENOS, BETA-, VEGETALES	160a(ii)	2017	1000 mg/kg	52 & 401
CICLAMATOS	952(i), (ii), (iv)	2019	250 mg/kg	17 & 477
CLOROFILAS Y CLOROFILINAS, COMPLEJOS CUPRICOS	141(i),(ii)	2009	50 mg/kg	52 & 190
CURCUMINA	100(i)	2017	150 mg/kg	52 & 402
ESTEAROIL LACTILATOS	481(i), 482(i)	2017	1000 mg/kg	
ÉSTERES DE PROPILENGLICOL DE ÁCIDOS GRASOS	477	2001	5000 mg/kg	
ÉSTERES DE SORBITÁN DE ÁCIDOS GRASOS	491-495	2017	5000 mg/kg	
ÉSTERES DIACETILTARTÁRICOS Y DE ÁCIDOS GRASOS DE GLICEROL	472e	2017	5000 mg/kg	399
ÉSTERES POLIGLICÉRIDOS DE ÁCIDOS GRASOS	475	2017	2000 mg/kg	
EXTRACTO DE PIEL DE UVA	163(ii)	2017	100 mg/kg	52, 181 & 402
EXTRACTOS DE ANNATO, BASE DE BIXINA	160b(i)	2017	20 mg/kg	8 & 52
EXTRACTOS DE ANNATO, BASE DE NORBIXINA	160b(ii)	2017	10 mg/kg	52 & 185
FOSFATOS	338; 339(i)-(iii); 340(i)-(iii); 341(i)-(iii); 342(i)-(ii); 343(i)-(iii); 450(i)-(iii),(v)-(vii), (ix); 451(i),(ii); 452(i)-(v); 542	2017	1500 mg/kg	33, 364 & 398
GLICÓSIDOS DE ESTEVIOL	960a, 960b, 960c, 960d	2017	200 mg/kg	26 & XS243
INDIGOTINA (CARMÍN DE ÍNDIGO)	132	2017	300 mg/kg	52 & 402
LUTEIN DE TAGETES ERECTA	161b(i)	2017	100 mg/kg	52 & 400
MARRÓN HT	155	2017	150 mg/kg	52

No. de Categoría de alimento 01.1.4		Bebidas lácteas líquidas aromatizadas		
Aditivo	SIN	Año Adoptada	Dosis máxima	Notas
NEGRO BRILLANTE (NEGRO PN)	151	2017	150 mg/kg	52
NEOTAMO	961	2019	20 mg/kg	478
NISINA	234	2017	12.5 mg/kg	233 & 403
ÓXIDOS DE HIERRO	172(i)-(iii)	2017	20 mg/kg	52 & 402
POLISORBATOS	432-436	2008	3000 mg/kg	
PONCEAU 4R (ROJO DE COCHINILLA A)	124	2008	150 mg/kg	52 & 161
RIBOFLAVINAS	101(i),(ii), (iii)	2008	300 mg/kg	52
ROJO ALLURA AC	129	2009	300 mg/kg	52 & 161
SACARINAS	954(i)-(iv)	2019	80 mg/kg	477 & 406
SAL DE ASPARTAMO Y ACESULFAMO	962	2019	350 mg/kg	113 & 477
SORBATOS	200, 202, 203	2012	1000 mg/kg	42 & 220
SUCRALOSA (TRICLOROGALACTOSACAROSA)	955	2019	300 mg/kg	478 & 404
SUCROÉSTERES	473, 473a, 474	2021	5000 mg/kg	
TARTRAZINA	102	2017	300 mg/kg	52
TOCOFEROLES	307a, b, c	2017	200 mg/kg	15
VERDE SÓLIDO FCF	143	2008	100 mg/kg	52
ZEAXANTHIN, SINTÉTICO	161h(i)	2017	100 mg/kg	52 & 400

**Figura 34.** Aditivos permitidos en la categoría 01.1.4, según Codex Alimentarios.

**Anexo 7.** Tablas de muestras estudiadas en el supermercado de matrices no abordadas en el análisis de laboratorio de la presente tesis, pero que servirá para el análisis de exposición.

**Tabla 39.** Muestra de galleta formato pequeño estudiada en el supermercado

Marca de galleta	Sucralosa mg/100 g	Estevia mg/100g
<b>McKay Musec</b>	No declara	20

**Tabla 40.** Muestras de cereal formato pequeño y grande estudiadas en el supermercado.

Marca cereal	Sucralosa mg/100 g	Estevia mg/100g
<b>Vivo Good Chocolate</b>	34	10
<b>Nestlé Estrellita</b>	27	8,1
<b>Nestlé Chocapic</b>	41,9	7,8
<b>Nestlé Fitness</b>	29,3	No declara
<b>Vivo Good Hojuelas</b>	31	13

**Tabla 41.** Muestras de barras cereal formato pequeño estudiadas en el supermercado.

Marca barra de cereal	Sucralosa mg/100 g	Estevia mg/100g
<b>Enlínea manzana</b>	16,5	0,04
<b>Livian frutos rojos</b>	11,3	No declara
<b>Livian chocolate</b>	16,5	0,1
<b>Quaker chip de cacao</b>	3,75	No declara

**Tabla 42.** Muestras de jugo en polvo estudiadas en el supermercado

Marca/tipo Jugo en polvo	Sucralosa mg/100 g	Estevia mg/100mL	Aspartamo mg/100mL	Acesulfamo K mg/100mL
<b>Zuko JUGO EN POLVO SABOR DURAZNO 20 g</b>	No declara	No declara	31	13
<b>Zuko JUGO EN POLVO SABOR NARANJA 20 g</b>	No declara	No declara	42	8
<b>ZUKO JUGO EN POLVO SABOR PIÑA 20 g</b>	No declara	No declara	31	14
<b>LIVIAN JUGO EN POLVO SABOR DURAZNO 7 g</b>	2	No declara	28	16
<b>LIVIAN JUGO EN POLVO SABOR NARANJA 7 g</b>	4	No declara	25	11

LIVIAN JUGO EN POLVO SABOR PIÑA 7 g	2	No declara	22	11
SPRIM JUGO EN POLVO SABOR PIÑA 25 g	No declara	No declara	30	13,2
SPRIM JUGO EN POLVO SABOR NARANJA 25 g	No declara	No declara	34,3	13,2
SPRIM JUGO EN POLVO SABOR DURAZNO 25 g	No declara	No declara	27,8	12,1
VIVO JUGO EN POLVO SABOR NARANJA 8 g	8	No declara	24	9
VIVO JUGO EN POLVO SABOR PIÑA 7 g	8	No declara	24	9
VIVOJUGO EN POLVO SABOR DURAZNO 7 g	8	No declara	24	9
VIVO JUGO EN POLVO SABOR NARANJA 7 g	8	No declara	24	9

**Tabla 43.** Muestras de bebidas de fantasía estudiadas en el supermercado

Marca/tipo bebida fantasía	Sucralosa mg/100 mL	Estevia mg/100mL	Aspartamo mg/100mL	Acesulfamo K mg/100mL
BEBIDA DE FANTASÍA COCA-COLA LIGHT 220 ml	No declara	No declara	24	16
BEBIDA DE FANTASÍA COCA-COLA SIN AZÚCAR 350 ml	No declara	No declara	24	16
BEBIDA DE FANTASÍA COCA-COLA SIN AZÚCAR EDICIÓN LIMITADA 350 ml	6,7	No declara	12	16
BEBIDA DE FANTASÍA PAP ZERO 500 ml	19,7	No declara	no declara	1,1
BEBIDA DE FANTASÍA BILZ ZERO 500 ml	19,7	No declara	no declara	2,7
BEBIDA DE FANTASÍA CRUSH ORANGE ZERO 500 ml	No declara	No declara	75	no declara

**Tabla 44.** Muestras de yogurt estudiadas en el supermercado

Marca/tipo yogurt	Sucralosa mg/100 g	Estevia mg/100g	Aspartamo mg/100g	Acesulfamo K mg/100g
NESTLÉ YOGHURT BATIDO SEMIDESCREMADO SABOR FRUTILLA 115 g	9	No declara	No declara	No declara
COLUN YOGHURT BATIDO SABOR FRUTILLA 125 g	No declara	4	No declara	No declara
SOPROLE YOGHURT BATIDO SABOR VAINILLA 120 g	No declara	7,5	No declara	No declara
NESTLÉ YOGHURT BATIDO SEMIDESCREMADO SABOR VAINILLA 115 g	9	No declara	No declara	No declara
COLUN YOGHURT BATIDO SABOR VAINILLA 125 g	No declara	4	No declara	No declara
NESTLÉ YOGHURT BATIDO SEMIDESCREMADO SABOR VAINILLA 115 g	9	No declara	No declara	No declara
DANONE YOGHURT BATIDO SEMIDESCREMADO SABOR FRUTILLA 115 g	12	2	No declara	No declara

**ANEXO 8.** Tablas con los cálculos de para evaluación de exposición.

**Tabla 45.** Evaluación de exposición para niños de 2 años que consumen productos con ACE-K.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
Néctares o jugos líquidos	71	64,5	14	4,61	0,3	2,0	0,022
Bebida de fantasía	160	57,2		4,09	0,65	4,3	0,044
Jugo en polvo	160	62,9		4,49	0,72	4,8	0,048
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>1,67</b>	<b>11,1</b>	<b>0,114</b>

Para obtener la exposición en mg o mL/kg peso al día, se utiliza los datos de concentración multiplicados por el consumo expresado en g o mL/kg peso día (considerar convertir a las unidades). Para obtener la contribución porcentual del IDA se considera el valor del IDA para el edulcorante, en este caso ACE-K (15 mg/kg peso día) y se realiza una relación con respecto a la exposición en mg o mL/ kg peso día, obteniendo la contribución al IDA. Y por último la relación de peligrosidad se obtiene dividiendo la exposición en mg o mL/kg peso día por el valor de IDA. Para el resto de las Tablas se mostrarán solamente los datos y los cálculos se realizan del mismo modo que como fue explicado para el caso de ACE-K en niños de 2 años.

**Tabla 46.** Evaluación de exposición para niños de 3 a 9 años que consumen productos con ACE-K

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
Néctares o jugos líquidos	71	63,5	27	2,35	0,17	1,1	0,011
Bebida de fantasía	160	142,6		5,28	0,85	5,7	0,056
Jugo en polvo	160	204,6		7,58	1,21	8,1	0,081
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>2,23</b>	<b>14,9</b>	<b>0,148</b>

**Tabla 47.** Evaluación de exposición para niños de 2 años que consumen productos con SUC.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
Néctares o jugos líquidos	140	64,5	14	4,61	0,6	4,0	0,043
Leche líquida	78	74,9		5,35	0,4	2,7	0,028
Cereal	419	3,3		0,24	0,1	0,7	0,007

<b>Barra de cereal</b>	165	0,2		0,01	0,002	0,013	0,0002
<b>Bebida de fantasía</b>	197	57,2		4,09	0,8	5,3	0,054
<b>Jugo en polvo</b>	80	62,9		4,49	0,4	2,7	0,024
<b>Yoghurt</b>	120	96,7		6,91	0,8	5,3	0,055
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>3,1</b>	<b>20,7</b>	<b>0,21</b>

**Tabla 48.** Evaluación de exposición para niños de 3 a 9 años que consumen productos con SUC.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	140	63,5	27	2,35	0,33	2,2	0,022
<b>Leche líquida</b>	78	104,9		3,89	0,30	2,0	0,020
<b>Cereal</b>	419	6,5		0,24	0,10	0,7	0,007

<b>Barra de cereal</b>	165	0,3		0,01	0,002	0,013	0,0001
<b>Bebida de fantasía</b>	197	197		5,28	1,04	6,9	0,069
<b>Jugo en polvo</b>	80	80		7,58	0,606	4,0	0,040
<b>Yoghurt</b>	120	120		3,65	0,438	2,9	0,029
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>2,82</b>	<b>18,8</b>	<b>0,18</b>

**Tabla 49.** Evaluación de exposición para niños de 2 años que consumen productos con ASP.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	314	64,5	14	4,61	1,4	3,5	0,036
<b>Bebida de fantasía</b>	750	57,2		4,09	3,1	7,8	0,077
<b>Jugo en polvo</b>	420	62,9		4,49	1,9	4,8	0,047

<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>	<b>6,4</b>	<b>16,1</b>	<b>0,2</b>
--	------------	-------------	------------

**Tabla 50.** Evaluación de exposición para niños de 3 a 9 años que consumen productos con ASP.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
<b>Néctares o jugos líquidos</b>	314	63,5	27	2,35	0,7	1,85	0,018
<b>Bebida de fantasía</b>	750	142,6		5,28	4,0	9,9	0,099
<b>Jugo en polvo</b>	420	204,6		7,58	3,2	7,95	0,080
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>7,9</b>	<b>19,7</b>	<b>0,197</b>

**Tabla 51.** Evaluación de exposición para niños de 2 años que consumen productos con estevia.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
<b>Néctar o jugo líquido</b>	230	64,5	14	4,61	1,1	27,5	0,265
<b>Leche líquida</b>	102	74,9		5,35	0,5	12,5	0,136

<b>Galleta dulce</b>	200	4,6		0,33	0,1	2,5	0,016
<b>Cereal hojuela</b>	130	0,8		0,06	0,01	0,25	0,002
<b>Yogurt</b>	75	97,6		6,91	0,52	13,0	0,130
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					2,2	55,8	0,549

**Tabla 52.** Evaluación de exposición para niños de 3 a 9 años que consumen productos con estevia.

Matriz	Concentración (mg/kg o L)	Consumo g o mL/día	Media de peso corporal kg	Consumo en g o mL/kg peso día	Exposición mg o mL/kg peso día	Contribución porcentual del IDA	Razón de peligrosidad
<b>Néctar o jugo líquido</b>	230	63,5	27	2,35	0,54	13,5	0,135
<b>Leche líquida</b>	102	104,9		3,89	0,40	10	0,099
<b>Galleta dulce</b>	200	9,7		0,36	0,07	1,75	0,018
<b>Cereal hojuela</b>	130	3,6		0,13	0,02	0,5	0,004

<b>Yogurt</b>	75	98,5		3,65	0,27	6,75	0,068
<b>Total de exposición, contribución porcentual y peligrosidad</b>					<b>1,3</b>	<b>32,5</b>	<b>0,324</b>