



EFEITOS DA COMBINAÇÃO COMERCIAL DOS EDULCORANTES SUCRALOSE E ACESSULFAME DE POTÁSSIO NO BIOENSAIO *ALLIUM CEPA*

Walter Matheus Schneider Blema¹, Henrique Ranieri Covali Pontes², Danielle de Serra Lima³

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil
(walterblema@hotmail.com)

^{2,3}Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil

Resumo: Edulcorantes, também conhecidos como adoçantes dietéticos, são substâncias capazes de proporcionar o sabor doce da sacarose, sem apresentar um valor calórico significativo para o organismo. Dentre os diversos edulcorantes disponíveis no mercado estão a sucralose e o acessulfame de potássio, os quais geram dúvidas sobre seus possíveis efeitos deletérios ao organismo. Este estudo teve como objetivo avaliar os potenciais citotóxicos e genotóxicos de diferentes concentrações da combinação comercial do adoçante dietético líquido composto por sucralose e acessulfame de potássio, ambos artificiais. Para isso, foram utilizadas células meristemáticas do bioensaio *Allium cepa* submetidas a três diferentes concentrações do edulcorante, por 24 e 48 horas, após crescimento inicial das raízes em água de torneira, que também foi usada como controle negativo do ensaio. Para as análises estatísticas foi empregado o programa Graphpad Prism 9.0 com análise de variância (ANOVA) e aplicação do Teste de Tukey. Os resultados obtidos no presente experimento demonstraram ausência de citotoxicidade e de genotoxicidade da combinação dos edulcorantes analisados, composta por sucralose e acessulfame de potássio.

Palavras-chave: Bioensaio; Adoçante; Citotoxicidade; Genotoxicidade;

INTRODUÇÃO

No Brasil, até a década de 80, os produtos dietéticos eram considerados um tipo de droga, comercializados apenas para portadores de diabetes mellitus, sendo aprovados para uso comercial somente em 1988 (Zanini et al., 2011). Em 2008, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou o uso aditivo de edulcorantes não calóricos em alimentos, sendo permitidos os adoçantes com aspartame, ciclamato de sódio, sucralose, sacarina sódica, esteviosídeo, taumatina, neotame e acessulfame de potássio (Brasil, 2008).

Atualmente, os edulcorantes dietéticos são produtos amplamente vendidos no Brasil, tendo diversas marcas e diversos tipos como os supramencionados. Pelo fato de permitirem o gosto doce nos alimentos sem acrescentar um valor calórico, acaba sendo um produto utilizado por diabéticos, pessoas com problemas cardíacos, hipertensas, síndromes metabólicas e por pessoas que estão realizando dieta para perda de peso. Estudo realizado por Arrais et al. (2019) registrou o percentual de consumo de adoçantes no Brasil de acordo com algumas variáveis, tais como sexo, presença de comorbidades,

faixa etária e região. Em seus resultados, o consumo de adoçante foi maior entre as mulheres, e estava mais associado a pessoas que apresentavam diabetes mellitus isolado ou associado a outras comorbidades.

Porém, os adoçantes também são bastante utilizados por pessoas com a necessidade de diminuir as calorias ingeridas em uma alimentação, ou seja, diminuir a proporção de açúcar extra em um alimento, de modo que com esse preceito surgiu o termo “produto dietético” (Paiva, 2008).

De acordo com a portaria nº 38, de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a legislação brasileira caracteriza os adoçantes dietéticos em um grupo denominado “alimentos para fins especiais”, sendo estes destinados a atender as demandas alimentícias de um grupo específicos de pessoas que possuem alguma irregularidade metabólica ou fisiológica (Brasil, 1998).

No entanto, estudos revelam que o consumo de edulcorantes pode provocar danos à saúde, a longo prazo, tais como desenvolvimento de câncer,



aumento do apetite e ganho de peso (Melo et al., 2015; Zanini et al., 2011).

A seguir, será apresentada uma breve revisão sobre os edulcorantes regulamentados no Brasil, com destaque para os adoçantes dietéticos objetos do presente estudo.

O Aspartame, também conhecido como éster metílico de N-alfa-aspartil-L-fenilalanina, é um açúcar artificial descoberto em 1965 por James Schlatter, sendo aprovado para consumo somente em 1981, pela *Food and Drugs Administration* (FDA). No Brasil, o comércio deste edulcorante foi liberado apenas em 1988 (Silva et al., 2016). Este edulcorante é um dos mais utilizados mundialmente, para substituir o açúcar, tendo em vista que sua molécula é caracterizada pela presença de dois aminoácidos, sendo então um dipeptídeo. A segurança do uso desse produto ainda não foi contestada (Araújo et al., 2008). Tendo em vista seu perfil dietético, o aspartame apresenta um valor calórico de 4 kcal/g. Com gosto doce próximo ao da sacarose, apresenta capacidade de adoçar, em média, 180 vezes mais que a sacarose, ou seja, uma unidade de aspartame apresenta um valor calórico de 0,02 kcal/g (Aspartame, 2018).

O Ciclamato de sódio, descoberto em 1937 por Michael Sveda, é um edulcorante artificial 30 vezes mais doce que a sacarose. A *Food and Drugs Administration* (FDA) liberou esse produto para fins dietéticos em 1959. No ano de 1977, o Ciclamato de sódio foi liberado pela *World Health Organization's Joint Expert Committee on Food Additives* para uso em diversos países, incluindo o Brasil (Arruda et al., 2003; Silva et al., 2019). De acordo com a literatura, o uso abusivo de ciclamato de sódio gera diarreia em humanos, devido a um efeito osmótico e não a um efeito que provoque doenças gastrointestinais (Arruda et al., 2003).

A Sacarina Sódica é um adoçante artificial descoberto em 1879 por Fahlber, sendo utilizado em diversos países, incluindo o Brasil. Este foi o primeiro adoçante artificial utilizado, apresentando um sabor adocicado 400 vezes maior que o açúcar. Com isso, é considerado um edulcorante dietético, isto é, com baixo teor calórico. Devido a suas características, é amplamente estudado pelo mundo, e passou por diversos processos de liberação e proibição devido a estudos que descreviam que o excesso desse agente ocasionava câncer em bexigas de ratos. Porém, em 1999, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) liberou o uso desse adoçante, evidenciando que ele não produzia risco de carcinogênese em humanos (Lima et al., 2010; Natividade, 2011).

O Esteviosídeo é um adoçante natural oriundo do arbusto *Stevia rebaudiana*, nativo da China, porém cultivado em outras regiões do globo. Apresenta

cerca de 200 à 300 vezes sabor mais adocicado do que a sacarose, sendo também um produto dietético, isto é, livre de calorias (Ribeiro et al., 2020).

A Taumatina foi descoberta em 1855 pelo cientista W. F. Daniell, quando encontrou uma fruta (*Thaumatococcus daniellii*), com alta capacidade de adoçar alimentos. Com o avanço dos estudos, foi descoberta nesta fruta uma proteína de cadeia longa denominada Taumatina. A Taumatina é cerca de 3.000 vezes mais doce que o açúcar. Esse adoçante dietético é altamente estável, e devido a sua característica natural foi apresentado como sendo de grande segurança para o consumo, servindo também de marketing para as empresas que o usam (Taumatina, 2012).

O Neotame é um açúcar sintético, com o maior poder adoçante, sendo cerca de 8.000 vezes mais doce que o açúcar comum. Foi aprovado em 2002, pela *Food and Drugs Administration*, sendo aprovado para consumo no Brasil, cerca de 10 anos depois (Lima et al., 2014).

Considerações sobre Sucralose e Acessulfame de potássio:

A Sucralose é descrita na literatura como um açúcar sintético formado a partir do próprio açúcar halogenado por três grupos hidroxilas com três átomos de cloro em uma posição específica da molécula (Edulcorantes, 2013). Este derivado sintético do açúcar é 600 vezes mais doce que a sacarose, sendo pouco absorvido pelo trato digestivo, é eliminado inalterado junto com a urina e as fezes. Ainda não se sabe muito sobre os efeitos à longo prazo da sucralose. Este adoçante foi aprovado pelo Comitê Misto FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (JEFCA) em 1990. Em 1998, foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* EUA (FDA) para uso como adoçante de mesa e em 15 categorias de alimentos e bebidas. Já em 2000, foi aprovado pelo Comitê Científico da Alimentação Humana (CCAH) da Comissão Europeia e agora pela *European Food Safety Authority* (EFSA), sendo considerado um edulcorante inerte e seguro, apresentando estabilidade em altas temperaturas, baixos pH's e a longos períodos de armazenamento (Christante, 2009; Edulcorantes, 2013; Manarini et al., 2018).

A recomendação diária de consumo de sucralose é de no máximo 5mg/kg, ou seja, uma mulher de 60kg pode consumir no máximo 300mg por dia (Ruiz-Ojeda et al., 2019).

A bibliografia apresenta contradições sobre a segurança no uso da sucralose. Por um lado, são apresentados resultados de pesquisas que comprovam que ela é um adoçante artificial dietético seguro, visto que não provocou cáries e nem apresentou efeitos tóxicos ou carcinogênicos (Canal, 2016). Apesar disso, há dúvidas sobre seus possíveis efeitos



a longo prazo em órgãos específicos do corpo, assim como a interferência desse edulcorante no metabolismo humano (Cavalcanti, 2017). Alguns autores condenam a sucralose pela presença de cloro na sua composição (Figura 1) e defendem que esse halogênio compete com a absorção do iodo na glândula tireoide, podendo vir a causar problemas nesta. Porém, o fato de ser um edulcorante sem valor calórico, e por apresentar 600 vezes maior sabor doce que a sacarose, estimulam a presença desse adoçante tanto na produção comercial, quanto no consumo na mesa da população mundial (Adoçantes, 2016).

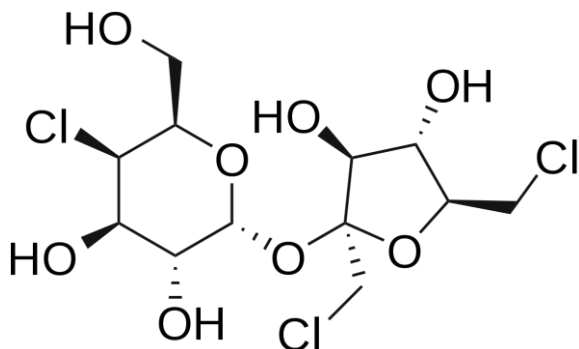


Figura 1. Estrutura da molécula de sucralose. Fonte: Cabral (2018).

Com relação ao Acessulfame de potássio, por apresentar o potássio em sua estrutura (Figura 2), acaba sendo um adoçante não recomendado para portadores de doenças renais. A bibliografia relata discordância com relação a formação de cânceres pelo uso desse agente dietético. Por outro lado, há relatos de casos de partos prematuros e de prejuízos de funções cerebrais, em estudos a longo prazo com animais, tendo como causa o acessulfame de potássio. Apesar disso, é um adoçante artificial não muito potente no paladar comparado aos outros, sendo cerca de 100 vezes mais doce que a sacarose, e muitos estudos, assim como as autoridades de saúde o declara como seguro (Basílio, 2018). Cabe então realizar estudos mais precisos com relação ao uso desses edulcorantes a longo e curto prazo, determinando as concentrações normais de consumo e excedentes (Basílio, 2018; Kazmi, 2017).

O acessulfame de potássio é um edulcorante dietético geralmente associado a outros, tais como a sucralose e o aspartame. Foi descoberto em 1967, por Clauss e Jensen. Porém, apenas em 1983, ele passou a ser utilizado na Europa como edulcorante. Atualmente, é amplamente utilizado em diversos países pelo mundo. A ingestão diária aceitável (IDA) para o Acessulfame de potássio é de 15mg/kg, ou seja, uma mulher de 60kg pode consumir no máximo 900mg por dia (Ruiz-Ojeda et al., 2019).

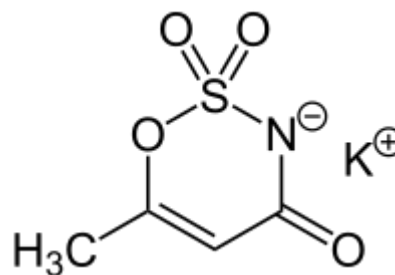


Figura 2. Estrutura da molécula de Acessulfame de Potássio. Fonte: Stringfixer (2018).

Diante da importância dos adoçantes no cotidiano tanto de pessoas saudáveis quanto com problemas de saúde, bem como dos resultados controversos de diferentes estudos realizados anteriormente, a presente pesquisa teve como objetivo analisar os efeitos citotóxicos e genotóxicos da combinação comercial de sucralose e acessulfame de potássio em células meristemáticas radiculares do bioensaio *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações sobre o Teste de *Allium*

O bioensaio *Allium cepa* (Teste de *Allium*) é utilizado desde a década de 40 para avaliar os efeitos de agentes químicos em monitoramentos ambientais, tendo uma correlação de até 82% com testes de carcinogenicidade realizada em roedores (Arraes e Longhin, 2012). Seu custo-benefício aliado à sua alta sensibilidade, apresentação de parâmetros visíveis macroscopicamente, como alteração de cor, tamanho, formato e até mesmo deformidade da raiz, e microscopicamente, como as alterações cromossômicas, tornam o bioensaio *Allium cepa* um processo rápido, confiável e eficiente (Longhin, 2008).

Cultivo e tratamento do organismo-teste

Foi utilizado como material-teste, o meristema de ponta de raiz de *Allium cepa* L. (cebola comum). Para obtê-lo, bulbos de *Allium cepa* L., de tamanho uniforme, foram lavados durante 1 hora em água corrente e colocados em estufa com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D) para enraizar em água de torneira, sem presença de luz, à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e sob aeração constante, por contínuo borbulhamento de ar (Figura 3).

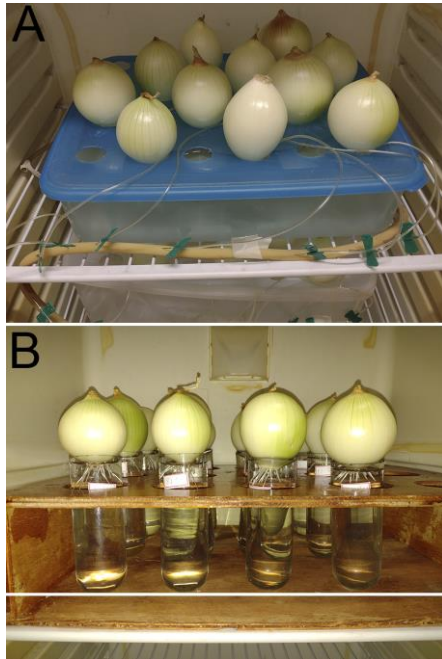


Figura 3 – Experimento com bioensaio *Allium cepa* em estufa com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.), mostrando (A) crescimento inicial das raízes em água de torneira com aeração constante; e, (B) exposição das raízes, em tubos individuais, às diferentes concentrações da substância-teste e ao controle negativo.

Somente as bases dos bulbos permaneceram imersas na água, essa sendo renovada a cada 24h. As raízes foram coletadas após alcançarem o comprimento de 15 a 25mm, quando a proliferação celular atingiu uma cinética de equilíbrio dinâmico (DIÉZ et al., 1970).

Os bulbos foram transferidos para frascos de vidro individuais, de 100mL de volume, para receberem o tratamento com o adoçante dietético líquido comercial contendo sucralose + acessulfame de potássio, nas seguintes concentrações:

Concentração 1 (C1): 13 gotas (0,416 mL) de adoçante para 100mL de água;

Concentração 2 (C2): 25 gotas (0,8 mL) de adoçante para 100mL de água;

Concentração 3 (C3): 50 gotas (1,6 mL) de adoçante para 100mL de água.

Controle Negativo (CN): 100mL de água de torneira.

Tais concentrações foram definidas considerando o consumo diário do composto em estudo para adoçar cinco xícaras de café, sendo 5 gotas (0,16 mL) por xícara (C2). As concentrações C1 e C3 representam a metade e o dobro desse consumo, respectivamente.

Cada concentração do tratamento, bem como o controle negativo do bioensaio, foram aplicados a uma série de 3 bulbos (total de 12 bulbos), os quais

foram mantidos nas condições anteriores de cultivo, porém sem aeração. Convém ressaltar a importância do cultivo inicial do sistema-teste em água de torneira, como forma de evitar uma atribuição indevida das causas de possíveis inibições do crescimento das raízes às substâncias-teste utilizadas, podendo estas causas serem devidas a características dos próprios bulbos. A água de torneira também foi utilizada como controle negativo do ensaio e como solvente para as diluições das amostras a serem testadas.

Nos períodos de 0 e 24 horas de tratamento foram selecionadas, aleatoriamente, e coletadas até 05 raízes por bulbo. Nestes períodos, foi efetuada a renovação de todas as substâncias-teste.

O sistema-teste retornou, então, às mesmas condições anteriores, onde permaneceu até completar 48h de tratamento, quando todas as raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy (3 partes de álcool etílico para 1 parte de ácido acético), a 4°C, por pelo menos uma noite.

Para a preparação das lâminas foram retiradas 3 raízes do total de raízes fixadas por bulbo, as quais foram colocadas em água para lavagem e recuperação da hidratação normal. Posteriormente, as raízes foram introduzidas na solução corante deorceína aceto-clorídrica, sendo aquecidas por três vezes consecutivas e postas para descansar durante 30 minutos. Após a coloração, foi feita a separação das regiões meristemáticas das raízes, as quais foram individualmente apoiadas sobre lâmina, coberta com uma ou duas gotas de ácido acético a 45% e esmagadas entre lâmina e lamínula. Por fim, as lamínulas tiveram suas bordas vedadas com esmalte incolor até a observação microscópica.

Características microscópicas avaliadas

Foram analisadas, microscopicamente, 3 raízes por bulbo (do total de 3 bulbos por concentração do tratamento) após 0h, 24h e 48h de permanência nas diferentes concentrações.

Para avaliação do potencial citotóxico de cada concentração do produto foram analisados os índices mitóticos de pelo menos 1000 células por raiz, em cada caso.

Para avaliação do potencial genotóxico foram considerados os números e os tipos de alterações cromossômicas observados nessas mesmas células. Os cálculos foram efetuados da seguinte forma:

a) Índice mitótico (IM): número de células em divisão/número de células observadas X100;

b) Alterações mitóticas: as frequências de células alteradas foram obtidas a partir do tratamento com cada concentração do produto proposto, comparadas



com as frequências de alterações obtidas após exposição das células aos controles negativos de cada ensaio.

Análises estatísticas

Os dados obtidos nos experimentos foram comparados, por meio de análise estatística, com seus respectivos controles negativos. Para isso, foi utilizado o programa Graphpad Prism 9.0 com análise de variância (ANOVA) e aplicação do Teste de Tukey.

Local de realização do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Mutagênese, do setor de Biologia Geral, do Instituto de Biociências, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Este laboratório é equipado com geladeira, estufa com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D), microscópios ópticos, banho eletrostático, contadores diferenciais de células automáticos, além de vidrarias e reagentes necessários para a realização da presente pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão representados os índices mitóticos e as frequências de alterações cromossômicas, de acordo com os diferentes tempos de exposição das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* ao adoçante dietético composto por sucralose e acessulfame de potássio. Estes dados foram utilizados para avaliar os níveis de significância dos resultados, por meio das análises estatísticas.

Tabela 1. Índices mitóticos (%) e frequências de alterações cromossômicas (%) após 0, 24 e 48 horas de exposição do bioensaio *Allium cepa* às diferentes concentrações do tratamento com Sucralose e Acessulfame de Potássio (C1, C2 e C3) e ao controle negativo (CN).

Tratamento	Período de Exposição	Índice Mitótico (%)	Frequência de alterações (%)
C1	0 hora	6,845	2,223
C2	0 hora	4,945	2,223
C3	0 hora	6,3	0
CN	0 hora	6,223	0
C1	24 horas	7,445	4,445
C2	24 horas	5,034	3,334
C3	24 horas	4,589	0
CN	24 horas	4,478	0
C1	48 horas	3,878	0
C2	48 horas	3,656	0
C3	48 horas	3,823	0
CN	48 horas	4,078	0

A partir dos resultados obtidos por meio de análise de variância (ANOVA), nas condições do presente experimento, é possível afirmar que, apesar de ter sido utilizada uma concentração maior do que a concentração recomendada pela Organização Mundial Saúde (OMS), a combinação comercial do adoçante dietético sucralose e acessulfame de potássio não provocou efeitos citotóxicos significativos ($p < 0.05$) nas células meristemáticas das raízes de *Allium cepa*, quando comparados ao controle negativo, em nenhum dos tempos de exposição ou concentração avaliados, conforme demonstrado na Figura 4.

Quando os índices mitóticos das células meristemáticas das raízes de *Allium cepa* tratadas com cada uma das três concentrações da combinação do edulcorante sucralose e acessulfame de potássio foram comparados entre si, após os diferentes tempos de exposição das raízes (Figura 5), foi observada redução significativa ($p < 0.05$) somente do índice mitótico das raízes tratadas com a concentração 1 por 48h. É possível inferir que esta variação nos resultados seja devida à variabilidade dos próprios bulbos, uma vez que tal diferença não foi constatada na comparação com o controle negativo.

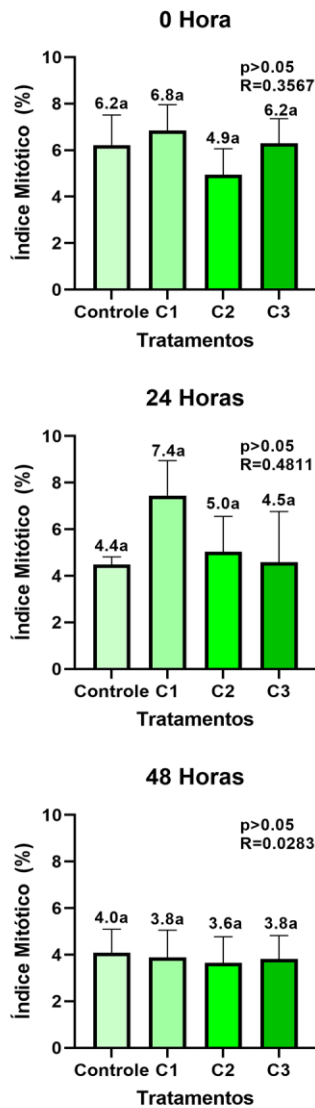


Figura 4. Comparação entre índices mitóticos (%) obtidos a partir da exposição por 0, 24 e 48 horas das raízes meristemáticas de *Allium cepa* às diferentes concentrações (C1, C2 e C3) da combinação comercial dos edulcorantes sucralose e acesulfame de potássio e ao controle negativo. Cada coluna representa a média e o erro padrão da média. Valores acompanhados pela mesma letra demonstram níveis não significativos entre resultados ($p < 0,05$).

Um estudo realizado por Samoilov et al. (2019) utilizando o bioensaio *Allium cepa* com duas modificações, sendo a primeira com a brotação preliminar de apenas 2 dias e a segunda com a seleção de bulbos com raízes maiores que 1 cm, evidenciou conformidade com este trabalho quando testado o adoçante dietético sucralose. De modo que em seus resultados o edulcorante sucralose não teve qualquer efeito tóxico para as raízes de *Allium cepa*, porém, ao misturar a Sucralose com o Aspartame foi visto um aumento de até 4 vezes nas taxas de toxicidade das células de *Allium cepa*,

correlacionando sua mistura química com um efeito sinérgico sistêmico em que as duas substâncias químicas unidas ampliaram seus efeitos quando comparadas separadamente (Samoilov et al., 2019).

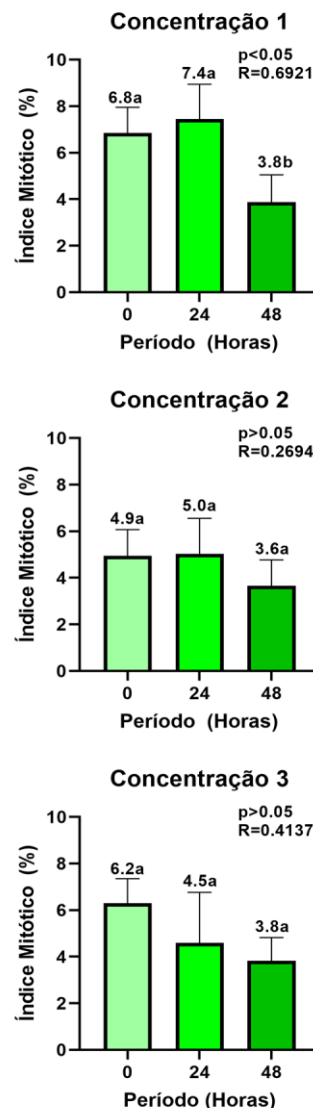


Figura 5. Comparação entre índices mitóticos (%) obtidos a partir da exposição por 0, 24 e 48 horas das raízes meristemáticas de *Allium cepa* à mesma concentração (C1, C2 ou C3) da combinação comercial dos edulcorantes sucralose e acesulfame de potássio. Cada coluna representa a média e o erro padrão da média. Valores acompanhados pela mesma letra demonstram níveis não significativos entre resultados ($p < 0,05$).

Também foi avaliado o potencial genotóxico da combinação comercial dos edulcorantes objeto deste estudo. Embora tenham sido observadas algumas alterações cromossômicas, sua frequência foi considerada basal, quando comparada à frequência de alterações encontrada no controle negativo.



A seguir, as figuras 6 e 7 apresentam, respectivamente, as fases normais do ciclo celular e as alterações cromossômicas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com a combinação comercial dos edulcorantes sucralose e acessulfame de potássio.

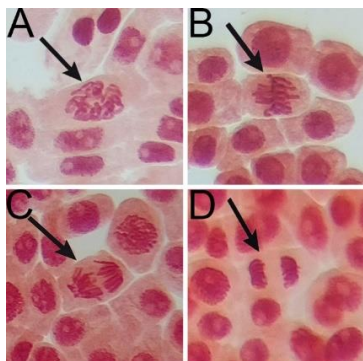


Figura 6. Imagens feitas pelo autor utilizando microscópio óptico (Marca: D.B.G.) em aumento de 400 vezes. Setas indicando fases normais do ciclo celular de células meristemáticas de *Allium cepa* expostas à combinação comercial do edulcorante sucralose e acessulfame de potássio: A) Prófase; B) Metáfase; C) Anáfase; D) Telófase.

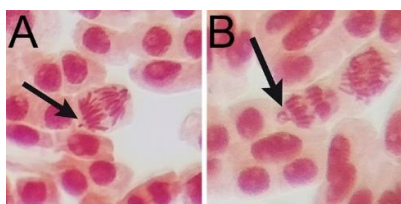


Figura 7. Imagens feitas pelo autor utilizando microscópio óptico (Marca: D.B.G.) em aumento de 400 vezes. Setas indicando as alterações cromossômicas mais frequentes nas células meristemáticas de *Allium cepa* expostas à combinação comercial do edulcorante sucralose e acessulfame de potássio: A) Micronúcleo; B) Migração precoce.

Estudos realizados por Brusick et al. (2010) utilizando tanto bioensaios *in vitro* quanto *in vivo* testando a sucralose convergiram para o mesmo ponto. Tanto nos testes realizados *in vivo* quanto nos *in vitro* a sucralose não apresentou efeitos de toxicidade, carcinogenicidade ou qualquer outro efeito adverso em uma dosagem equivalente a mais de 453,5 Kg de doçura. Apesar de Brusick et al. (2010) não realizar o bioensaio *Allium cepa* é possível demonstrar que seu trabalho também alcançou resultados negativos no quesito de avaliação da genotoxicidade da Sucralose.

Embora os testes demonstrem que a combinação de sucralose e acessulfame de potássio são edulcorantes seguros no quesito de genotoxicidade e citotoxicidade, Raya et al. (2020) realizaram testes *in vivo* com estes dois adoçantes separados e afirmaram

que apesar de ambos serem os mais seguros, ainda afetaram de forma negativa a microbiota intestinal e aumentaram a quantidade de marcadores inflamatórios no fígado de ratos albinos Wistar quando alimentados por 30 dias com uma dieta balanceada contendo os adoçantes.

CONCLUSÃO

Nas condições adotadas no presente experimento foi possível evidenciar que a combinação comercial do edulcorante dietético composto por sucralose e acessulfame de potássio não provocou efeitos citotóxicos e nem genotóxicos em células meristemáticas de *Allium cepa* quando comparados ao controle negativo. Porém, novos estudos devem ser realizados considerando outros efeitos e condições distintas às adotadas neste experimento, a fim de agregar resultados, também consistentes, para a indicação segura dos edulcorantes avaliados neste estudo. Por fim, vale ressaltar que os resultados obtidos por meio do bioensaio *Allium cepa* mostrou-se convergente com resultados encontrados na literatura obtidos com outros bioensaios, o que confirma a confiabilidade deste ensaio biológico.

REFERÊNCIAS

- ADOÇANTES. Prós e contras de 10 tipos de adoçantes. Aditivos & Ingredientes. 2016.
- ARAÚJO, D. B. de; BARRAL, T.; ARAÚJO, R. P. C. de. Análise das características de produtos contendo aspartame comercializados em Salvador, Bahia, Brasil. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, v. 8, n. 2, p. 223-228, maio-agosto, 2008.
- ARRAES, A. I. O. M.; LONGHIN, S. R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. Enciclopédia biosfera, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 1958, 2012.
- ARRAIS, P. S. D. et al. Utilização de adoçantes no Brasil: uma abordagem a partir de um inquérito domiciliar. Cad. Saúde Pública, v. 35, n. 11, 2019.
- ARRUDA, J. G. F. de; MARTINS, A. T.; AZOUBEL, R. Ciclamato de sódio e rim fetal. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, v. 3, n. 2, p. 147-150, 2003.
- ASPARTAME. Aspartame. Food Ingredients Brasil, n. 43, 2018.
- BASÍLIO, M. J. D. Acessulfame de potássio, sacarina e aspártamo em bebidas: ocorrência e avaliação do risco. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Universidade de Coimbra. 2018.



- BRASIL, Portaria nº 38 de 13 de janeiro de 1998. Brasília: Ministério da Saúde, 1998. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/svs1/1998/prt0038_13_01_1998.html. Acesso em: 06 de Abril de 2021.
- BRASIL. Resolução RDC nº. 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Diário Oficial da União, 2008.
- BRUSICK, D. et al. The absence of genotoxicity of sucralose. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, n. 11, p. 3067-3072, nov. 2010.
- BUENO, C. Respeite o limite máximo indicado nos rótulos dos adoçantes. UOL, ciência e saúde. 2009. Disponível em: <<https://noticias.uol.com.br/ultnot/cienciaesaude/ultnot/2009/06/28/ult4477u1801.jhtm>>. Acesso em: 07 de abril de 2021.
- CABRAL, T. M. et al. Artificial Sweeteners as a Cause of Obesity: weight gain mechanisms and current evidence. *Health*, v. 10, n. 05, p. 700-717, 2018.
- CANAL, L. B. Avaliação do consumo de adoçantes e alimentos dietéticos pela população adulta. 2016. 33 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016.
- CAVALCANTI, C. N. Sucralose: consumo regular e efeitos a longo prazo. 2017. 19 f. Monografia (Graduação) - Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.
- CHRISTANTE, L. Os adoçantes na balança. Unespciência, 2009. Disponível em: <<http://portaldoprofessor.mec.gov.br/storage/materiais/0000011891.pdf>>. Acesso em: 06 de Abril de 2021.
- EDULCORANTES. Edulcorantes. *Food Ingredients Brasil*, n. 24, 2013.
- KAZMI, S. A. J. et al. Comparison of acute effects of sucralose, aspartame and acesulfame potassium on pulse, blood pressure, and blood glucose levels in young healthy adults. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 7, n. 2, p. 60-69, 2017.
- LIMA, J. de S.; DIAS, M. C.; MATENCIO, T. Aplicação da espectroscopia no infravermelho e difração de Raio-X na determinação de sacarina em adoçantes líquidos artificiais pelo método volumétrico com Ag+. *Ecl. Quím.*, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 25-32, 2010.
- LIMA, M. V. de; MORAES, P. C. B. T. Efeito do uso do neotame e outros edulcorantes no processamento e na aceitação de geleia de maracujá. *Revista de Ciência & Tecnologia*, v. 17, n. 35, p. 7-15, 2014.
- LONGHIN, S. R. Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos. 2008. 176 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- MANARINI, T.; VANONI, E.; GETTYMAGES, A. S. Em busca do adoçante perfeito. *Saúde é Vital*, p. 41-45, ago. 2018.
- MELO, S. S.; CECHINEL, C. C.; GERN, B. H. Efeitos dos diferentes tipos de adoçantes dietéticos isolados nos parâmetros nutricionais e bioquímicos de ratos. *Nutriere*, v.40, n. 2, p. 153-161, 2015.
- NATIVIDADE, D. P. Uso de adoçantes dietéticos: Orientações para profissionais de saúde e ensino. Tese de Mestrado. Programa de Mestrado Profissional em Ensino em Ciências da Saúde e do Meio Ambiente. *Volta Redonda*, p. 64, 2011.
- PAIVA, E. S. Adoçantes artificiais: novos limites, novas substâncias e benefícios ao nosso alcance. *Food Ingredients Brasil*, n. 5, 2008.
- RAYA, S. A. In vivo comet assay of food additives' Combinations and their effects on biochemical parameters in Albino Rats. *Biointerface Research In Applied Chemistry*, v. 11, n. 1, p. 9170-9183, 2020.
- RIBEIRO, T. R.; PIROLLA, N. F. F.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Adoçantes artificiais e naturais: Propriedades químicas e biológicas, processos de produção e potenciais efeitos nocivos. *Rev. Virtual Quím.*, v. 12, n. 5, 2020.
- RUIZ-OJEDA, F. J.; PLAZA-DÍAZ, J.; SÁEZ-LARA, M. J.; GIL, A. Effects of Sweeteners on the Gut Microbiota: a review of experimental studies and clinical trials. *Advances in Nutrition*, v. 10, n. 1, p. 31-48, 2019.
- SAMOILOV, A. V. et al. Comparative Assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, n. 2, p. 83-90, 2019.
- SILVA, A. E. et al. Avaliação dos efeitos do aspartame sobre a ingestão alimentar, os parâmetros físicos, bioquímicos e histopatológicos em ratos Wistar. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v. 68, n. 6, p. 1516-1522, 2016.
- SILVA, A. K. C. et al. Teor de ciclamato de sódio e perfil do consumidor de bebidas dietéticas.



Segurança Alimentar e Nutricional, v. 26, p. 147-150, 2019.

STRINGFIXER. Acessulfame potassium, 2018.
Disponível em: <https://stringfixer.com/pt/Acesulfame_potassium>

TAUMATINA, adoçante 100% natural. Food ingredients Brasil, n. 20, 2012.

ZANINI, R. de V.; ARAÚJO, C. L.; MARTÍNEZ-MESA, J. Utilização de adoçantes dietéticos entre adultos em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: um estudo de base populacional. Saúde Pública. v. 27, n. 5, p. 925-934, 2011.