

# Efeitos dos diferentes tipos de adoçantes dietéticos isolados nos parâmetros nutricionais e bioquímicos de ratos

## *Effects of different types of isolated dietary sweeteners on nutritional and biochemical parameters of rats*

### ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to evaluate the effects of using different types of isolated sweeteners in nutritional and biochemical parameters of rats. **Methods:** We used 36 adult male rats, maintained on diet for 42 days and divided into six groups: Group C - Control, Group AS - Aspartame; Group ES - Stevia; Group SU - Sucralose; Group CI - Cyclamate; group SA - Saccharin. The animals were fed a standard AIN 93M with replacement of sucrose by its sweetener and water *ad libitum*. The animals were kept in metabolic cages in a controlled environment and were recorded body weight, food and water consumption, urinary and fecal excretion. At the end of the study the animals were anaesthetized intraperitoneally with a combination of ketamine, hydrochloride xylazine and acepromazine and euthanized by cardiac puncture. The serum was used to determine glucose, lipid, liver and kidney profiles. **Results:** Animals receiving sweeteners had lower food intake compared to Group C, highlighting the SA Group. The results indicated that the sweeteners used in this study and the maximum proportion suggested by ANVISA, particularly saccharin, stevia, sucralose and cyclamate, decreased the animals food intake. Sweeteners did not influence the other study variables. **Conclusions:** The sweeteners reduced food intake, but no change was noticed in the animal's final weight gain and other variables. We suggest additional long term research.

**Keywords:** Dietetic sweeteners. Rats. Biological markers.

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar os efeitos do uso de diferentes tipos de adoçantes isolados nos parâmetros nutricionais e bioquímicos de ratos. **Métodos:** Foram utilizados 36 ratos machos, *Wistar*, adultos, mantidos sob dieta durante 42 dias e distribuídos em seis Grupos: Grupo C – Controle; Grupo AS – Aspartame; Grupo ES – Estévia; Grupo SU – Sucralose; Grupo CI – Ciclamato; Grupo SA – Sacarina. Os animais receberam dieta padrão AIN 93M com substituição da sacarose pelo respectivo adoçante e amido, com água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em ambiente controlado e foram registrados peso corporal, consumo alimentar e hídrico, excreção urinária e fecal. Os animais foram anestesiados via intraperitoneal, com Cloridrato de Cetamina, Cloridrato de Xilazina e Acepromazina. A eutanásia foi realizada por punção cardíaca. O soro foi utilizado para determinar perfil glicídico, lipídico, hepático e renal. **Resultados:** Os animais que receberam adoçantes apresentaram menor consumo alimentar em relação ao Grupo C, destacando-se o Grupo SA. Os resultados indicaram que os adoçantes utilizados no presente estudo e na proporção máxima sugerida pela ANVISA, principalmente sacarina, estévia, sucralose e ciclamato, diminuíram o consumo alimentar dos animais. Os adoçantes não influenciaram as demais variáveis do estudo. **Conclusões:** Os adoçantes reduziram o consumo alimentar, porém sem alteração no ganho de peso final dos animais e nas demais variáveis estudadas. Sugere-se a realização de pesquisas adicionais em longo prazo.

**Palavras-chave:** Edulcorantes dietéticos. Ratos. Marcadores biológicos.

Sandra Soares Melo<sup>1\*</sup>, Camile  
Cecconi Cechinel<sup>1</sup>,  
Bruno Hoeltgebaum Gern<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Nutrição  
Experimental - LANEX,  
Universidade do Vale do Itajaí,  
Itajaí-SC, Brasil

**\*Dados para correspondência:**  
Sandra Soares Melo  
Laboratório de Nutrição  
Experimental, Centro de Ciências  
da Saúde, Universidade do Vale do  
Itajaí - Univali - Bloco F6, térreo,  
Rua Uruguai, 458, Centro,  
CEP 88302-202, Itajaí-SC, Brasil  
E-mail: ssmelo@gmail.com,  
camilecechinel@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A procura e o consumo por alimentos *diet*, utilizados em dietas para fins especiais com restrição de nutrientes, alimentos para controle de peso e alimentos para ingestão controlada de açúcares (Portaria n° 29/1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA)<sup>1</sup>, ou alimentos *light*, reduzidos no mínimo em 25% no valor energético ou em algum nutriente em relação ao alimento de referência ou convencional (RDC n° 54, de 12 de novembro de 2012 da ANVISA)<sup>2</sup>, vêm crescendo tanto entre consumidores com restrições dietéticas quanto entre os que buscam a manutenção ou mudança da forma física.<sup>3</sup>

De acordo com Suplicy<sup>4</sup>, adoçantes são substâncias que possuem poder adoçante elevado quando comparados à sacarose e podem ser classificados como naturais e artificiais.

No Brasil, os produtos dietéticos tiveram sua venda permitida em supermercados somente no final da década de 80.<sup>4</sup> A regulamentação do uso de edulcorantes é de responsabilidade do Ministério da Saúde, por meio da ANVISA, que permite a utilização de quinze edulcorantes no Brasil, incluindo sacarina sódica, ciclamato de sódio, aspartame, sucralose e esteviosídeo.<sup>5</sup>

O uso dos adoçantes artificiais ou edulcorantes tem sido objeto de muitas polêmicas a respeito de sua segurança. Entretanto, estudos têm sido realizados para avaliar o possível risco e a vantagem que os adoçantes oferecem como a redução das calorias ingeridas, além de verificar o efeito na redução de risco e controle de determinados problemas de saúde.<sup>6,7</sup> Com o aumento da prevalência de obesidade, diabetes e problemas de saúde associados, o uso de adoçantes está sendo cada vez mais discutido em relação à segurança do seu consumo e possíveis efeitos indesejáveis, principalmente quando utilizado de forma exclusiva, sem a associação com outros métodos para a perda de peso.<sup>8</sup>

Os edulcorantes sacarina e ciclamato sódicos são utilizados associados em diferentes proporções. No Brasil, existem diversos adoçantes de mesa com esta composição, sendo que os mais vendidos possuem a proporção de duas partes de ciclamato para uma de sacarina.<sup>9</sup> O aspartame é um dos adoçantes mais usados no mundo. Seu uso atualmente em mais de 6000 produtos (refrigerantes, chicletes, doces) foi acompanhado com preocupações por

consumidores devido à toxicidade, em particular seus efeitos potenciais de carcinogenicidade a longo prazo.<sup>10</sup> A estévia é um adoçante natural não-tóxico que tem sido consumido por humanos sem efeitos negativos, mostrando-se vantajosa quando comparada aos adoçantes artificiais.<sup>11</sup>

Estudos experimentais em animais e humanos sugerem que o consumo excessivo de açúcar pode produzir alterações neurobiológicas e comportamentais semelhantes a toxicodependência.<sup>13,14</sup> O sabor doce produz sensação de recompensa intensa<sup>12</sup>, o que pode ocasionar compulsão<sup>15</sup>, sensibilização, sensibilização cruzada a psicoestimulantes e opioides<sup>16</sup> e até sintomas de abstinência.<sup>17</sup> A exposição a drogas de abuso, particularmente durante os períodos críticos de desenvolvimento do cérebro (por exemplo, a adolescência), produz mudanças duradouras no sistema de recompensa cerebral e do comportamento.<sup>18</sup>

## OBJETIVOS

Diante do exposto, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar os efeitos dos diferentes tipos de adoçantes dietéticos isolados nos parâmetros nutricionais (consumo alimentar, ganho de peso, ingestão hídrica, excreção urinária, excreção fecal, peso dos órgãos) e bioquímicos (perfil glicídico, lipídico, hepático e renal) em ratos.

## MÉTODO

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade do Vale do Itajaí, de acordo com as Normas Internacionais para Pesquisas Biomédicas em Animais e a Lei n° 11.794 de 08 de outubro de 2008<sup>19</sup>, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais. O referido estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição.

Foram utilizados 36 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem *Wistar*, livres de patógenos específicos (SPF), machos, adultos jovens, com peso médio inicial de 235,17g (desvio padrão 15,34g), provenientes do Biotério Central da UNIVALI, Campus I, Itajaí-SC.

Os animais foram distribuídos em blocos ao acaso em seis grupos, sendo cada grupo composto por seis animais: Grupo C – Controle; Grupo AS – Aspartame; Grupo ES – Estévia; Grupo SU – Sucralose; Grupo CI – Ciclamato; Grupo SA – Sacarina. O Grupo C recebeu dieta padrão

contendo sacarose, preparada de acordo com a recomendação do *American Institute of Nutrition* (AIN-93M), formulada para a manutenção de ratos adultos.<sup>20</sup> Os demais grupos receberam a dieta AIN-93M, porém com substituição da sacarose por amido e pela quantidade máxima de adoçantes por 100 gramas de alimento, preconizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária<sup>3</sup> (Estévia 0,06g; Ciclamato 0,04g; Sacarina 0,015g; Aspartame 0,075g; Sucralose 0,04g por 100g de dieta experimental).

Os adoçantes isolados foram adquiridos de fornecedores que comercializam a matéria-prima para a indústria, sendo estes: Sacarina (Labsynth lote 144949); Estévia (Florien lote 032627); Ciclamato de Sódio (Labsynth lote 131804); Aspartame (Henrifarma lote 11100708); Sucralose (Changzhou Niutang Chemical lote 120116).

Os animais permaneceram por quatro dias em adaptação ao ambiente com dieta peletizada fornecida pelo Biotério (Nuvital®) e água. Após, todos os grupos receberam suas respectivas dietas e água *ad libitum*, no decorrer dos 42 dias. Nesse período, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas de aço inoxidável, em sala fechada, temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ventilação artificial por meio de exaustores e insuflador e fotoperíodo de 12 horas.

No decorrer do experimento foram registrados peso corporal duas vezes na semana, excreção urinária e fecal uma vez por semana, ingestão hídrica e consumo alimentar. A higienização de gaiolas, comedouros e bebedouros foi realizada três vezes por semana.

Ao término do período do experimento os animais foram submetidos a jejum de 8 a 12 horas, devidamente anestesiados via intraperitoneal, com a associação de Cloridrato de Cetamina (40mg/kg de peso), Cloridrato de Xilazina (5mg/kg de peso) e Acepromazina (2mg/kg de peso), segundo protocolo proposto por Damy et al.<sup>21</sup>

A eutanásia foi realizada por meio da punção cardíaca do ventrículo direito e o sangue centrifugado com velocidade de 3000 rotações por minuto durante dez minutos. O soro foi separado e nele foram determinadas as concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e creatinina, com a utilização de kits enzimáticos específicos para

cada substância da marca Labtest®. A leitura foi realizada em equipamento automatizado COBAS MIRA (Roche®).

Os órgãos dos animais foram coletados (fígado, rim esquerdo, pâncreas e baço), lavados em solução salina, colocados sobre papel filtro e imediatamente pesados para comparação de peso entre grupos.

Para a análise estatística, as variáveis quantitativas foram apresentadas como médias e desvios padrão. A determinação das diferenças entre os grupos experimentais foi realizada por meio da Análise de Variância (ANOVA), bicaudal, com pós-teste de Tukey-Kramer. A relação entre variáveis dependentes foi realizada pelo teste de correlação linear de Pearson. O programa Graph Pad Instat, versão 3.0, foi utilizado para os testes, sendo consideradas significativas as diferenças com  $p < 0,05$ .<sup>22</sup>

## RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os valores do consumo alimentar dos animais ao longo do período experimental. Observou-se diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos a partir da segunda semana, com exceção da quinta semana. Na segunda semana, o Grupo SU diferiu do Grupo C, com menor consumo alimentar. Na terceira semana, os Grupos ES e SA apresentaram menores médias para essa variável em comparação ao Grupo C. Na quarta semana, todos os Grupos, com exceção do Grupo SU exibiram menores médias em relação ao Grupo C. Na sexta semana, os Grupos SU, CI e SA mostraram valores inferiores de consumo alimentar quando comparados ao Grupo C.

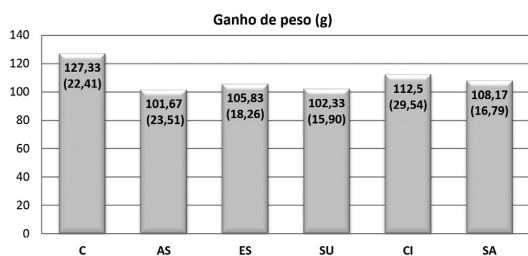
Os grupos mostraram-se semelhantes quanto à variável peso corporal no início do estudo ( $p=0,9993$ ). O Gráfico 1 exibe o ganho de peso corporal dos animais ao final do período experimental. Os grupos não diferiram estatisticamente entre si, entretanto o Grupo AS seguido pelo SU e ES exibiram o menor valor médio de ganho de peso em relação ao Grupo C. Calculou-se o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) obtido pela relação de ganho de peso (g) / consumo alimentar total no período de experimento (g). Não se observou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para essa variável ( $p=0,4924$ ).

A ingestão hídrica e excreção urinária dos diferentes grupos experimentais não sofreram alterações estatisticamente significativas entre si ou em relação ao controle (Tabela 2). Entretanto,

**Tabela 1.** Médias e desvios padrão do consumo alimentar (gramas/dia) dos diferentes grupos experimentais durante as seis semanas do estudo.

Grupos	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana	6ª semana
C	35,15(1,85)	32,95(2,34)a	31,87(2,41)a	33,01(1,97)a	30,57(2,39)	32,19(2,32)a
AS	33,57(2,73)	29,74(2,47)ab	28,92(1,92)ab	29,58(2,11)b	29,60(2,12)	29,50(1,64)ab
ES	32,87(2,35)	28,38(2,25)ab	27,25(2,84)b	29,65(0,86)b	29,14(0,96)	29,57(1,57)ab
SU	33,82(1,88)	28,31(2,37)b	29,14(1,51)ab	29,97(1,72)ab	29,35(1,73)	29,24(1,10)b
CI	33,54(2,18)	29,20(3,12)ab	28,86(1,99)ab	28,74(2,13)b	28,19(2,03)	26,90(1,64)b
SA	32,86(2,23)	28,65(3,09)ab	27,25(2,84)b	27,91(2,20)b	28,83(1,84)	28,76(1,79)b
Valor de p	0,5192	<b>0,0405</b>	<b>0,0188</b>	<b>0,0017</b>	<b>0,4024</b>	<b>0,0005</b>

Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas, entre grupos, com  $p < 0,05$ .



**Gráfico 1.** Médias e desvios padrão do ganho de peso corporal (gramas) dos animais distribuídos em seis grupos ao final do estudo. Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas, entre grupos, com  $p < 0,05$ .

na quinta semana observou-se tendência estatística ( $p = 0,0840$ ) do Grupo SA exibir menor valor médio de ingestão hídrica, e o Grupo SU, o maior valor. O mesmo comportamento foi identificado para o Grupo SA da segunda à quarta semana, em relação ao Grupo AS, o qual apresentou os maiores valores médios nesse período. Quanto à excreção urinária verificou-se tendência estatística ( $p = 0,0991$ ) do Grupo SA a apresentar menor valor médio, e do Grupo C, o maior valor. Em adição, o Grupo AS exibiu maior valor médio da primeira à terceira semana.

A excreção fecal dos animais ao longo do experimento não diferiu estatisticamente durante o experimento (Tabela 3).

Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos em relação às concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol (Tabela 4). Quanto às concentrações séricas de glicose, os Grupos ES e SU exibiram os

menores valores médios, com redução de 15,60% e 15,25%, respectivamente, em relação ao Grupo C.

Os animais dos grupos experimentais não diferiram estatisticamente entre si quanto ao perfil hepático e renal ao final do estudo (Tabela 4). Porém, o Grupo CI apresentou aumento de 20% nas concentrações séricas de creatinina em comparação ao Grupo C.

A média de peso dos órgãos estudados (rim, pâncreas, baço e fígado) não foi diferente entre os grupos estudados (Tabela 5).

## DISCUSSÃO

Apesar da crescente presença de edulcorantes na mesa da população, faltam estudos conclusivos que certifiquem o consumo com segurança destes produtos.<sup>23,24</sup>

Os receptores de doces estão presentes na boca e nas células enteroendócrinas intestinais, e são responsáveis pela percepção do gosto doce, sendo estimulados por adoçantes nutritivos. Estes se ligam aos receptores, induzindo a liberação de hormônios como o peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1), em alguns modelos experimentais.<sup>25</sup> Os Grupos experimentais deste estudo que receberam os adoçantes apresentaram redução do consumo alimentar a partir da segunda semana, com exceção da quinta semana, com menores médias em relação ao Grupo C.

Diferindo do presente estudo, Swithers et al.<sup>26</sup> realizaram um experimento com 36 ratas adultas, por quatro semanas, induzidas à obesidade com dieta hiperlipídica e hiperglicídica, divididas em dois grupos ( $n = 18$ ): um grupo fenotipicamente obeso

**Tabela 2.** Médias e desvios padrão referentes à ingestão hídrica e excreção urinária (mL/dia) dos animais ao longo do experimento.

Grupos	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana	6ª semana
<b>Ingestão Hídrica</b>						
C	09,54(03,14)	24,21(12,15)	25,92(11,82)	22,71(11,26)	27,71(11,98)	21,92(08,38)
AS	12,17(07,50)	32,29(16,35)	29,08(11,53)	30,96(16,16)	28,21(11,01)	29,79(06,95)
ES	07,92(02,33)	20,71(08,84)	21,96(09,00)	23,96(08,49)	25,46(03,88)	30,21(13,86)
SU	10,88(10,80)	23,13(10,85)	25,33(12,48)	25,71(13,60)	36,21(10,33)	29,92(12,43)
CI	10,50(04,54)	27,00(15,31)	27,58(10,33)	28,67(09,19)	28,83(09,94)	26,00(07,98)
AS	11,58(10,87)	13,21(07,10)	20,33(11,14)	19,63(09,90)	18,88(05,88)	23,75(14,80)
Valor de p	0,9331	0,1800	0,7458	0,6043	<b>0,0840</b>	0,6885
<b>Excreção Urinária</b>						
C	14,00(06,03)	17,50(10,48)	17,50(11,43)	21,67(26,58)	23,50(10,91)	20,00(08,65)
AS	20,67(17,59)	34,83(31,66)	25,00(22,17)	17,17(09,54)	19,17(06,21)	23,00(06,26)
ES	11,00(05,14)	15,33(07,29)	11,83(03,49)	13,00(04,43)	19,50(07,77)	20,50(06,16)
SU	17,00(15,38)	12,50(07,99)	17,33(17,24)	16,83(08,50)	21,83(08,40)	24,67(14,31)
CI	15,83(06,24)	23,33(14,19)	19,17(09,15)	17,33(00,05)	24,83(09,17)	22,67(07,47)
AS	13,33(15,60)	14,17(13,41)	16,00(15,85)	12,67(06,62)	11,67(03,20)	21,00(07,93)
Valor de p	0,2021	0,7533	0,8366	<b>0,0991</b>	0,9419	0,8080

Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina.

**Tabela 3.** Médias e desvios padrão da excreção fecal (gramas/dia) dos animais no decorrer do estudo.

Grupos	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana	6ª semana
C	1,46(0,47)	1,55(0,23)	1,54(0,26)	1,45(0,45)	1,65(0,51)	0,76(0,58)
AS	1,25(0,23)	1,52(0,43)	1,69(0,73)	1,46(0,37)	1,59(0,43)	1,29(0,18)
ES	1,45(0,44)	1,43(0,49)	1,51(0,28)	1,35(0,27)	1,61(0,25)	1,42(0,26)
SU	1,71(0,17)	1,26(0,39)	1,37(0,34)	1,59(0,23)	1,35(0,31)	1,95(1,86)
CI	1,36(0,20)	1,64(0,23)	1,51(0,22)	1,33(0,30)	1,30(0,40)	1,34(0,16)
AS	1,20(0,28)	1,36(0,33)	1,45(0,29)	1,33(0,25)	1,40(0,25)	1,13(0,27)
Valor de p	0,1205	0,5138	0,8238	0,6899	0,4567	0,2668

Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina.

(DIO) e outro grupo resistente à obesidade (DR), com base no valor médio corporal. Os autores dividiram os animais em dois subgrupos, sendo alimentados 12 dias com iogurte natural e após, receberam por mais 12 dias iogurte adoçado com 0,3% sacarina ou com 20% de glicose. Verificou-se que os animais que receberam iogurte adoçado com sacarina apresentaram menor consumo do iogurte, porém maior consumo da ração e da ingestão energética total. O mesmo ocorreu com os animais DR, entretanto, sem diferença estatística no total de energia consumida. Desse modo, a adição do adoçante sacarina à dieta aumentou o consumo alimentar destas ratas, além de aumento de peso e adiposidade comparados aos animais

que receberam o iogurte adoçado com glicose nos dois fenótipos.

A ingestão de edulcorantes não calóricos pode atuar diminuindo a eficácia das associações aprendidas entre os sabores doces e mecanismos fisiológicos pós-ingestão. A interferência nesta associação pode ser prejudicial à capacidade dos ratos em regular o consumo de doces, de alimentos ricos em gordura e com alto teor calórico, reforçando a hipótese de que o consumo de adoçantes não calóricos podem promover a ingestão excessiva.<sup>27</sup> No entanto, os dados deste trabalho contrariam essa hipótese.

Os resultados indicaram que os adoçantes utilizados no presente estudo e na proporção máxima sugerida pela ANVISA, principalmente



**Tabela 4.** Médias e desvios padrão das concentrações séricas (mg/dL) dos exames bioquímicos dos diferentes grupos experimentais ao final das seis semanas do estudo.

Grupos	Glicose	Triglicerídeos	Colesterol –T	HDL – C
C	380,33(40,60)	169,17(122,75)	46,50(10,64)	33,67(5,79)
AS	367,83(47,49)	185,33(72,44)	52,17(11,05)	38,33(8,11)
ES	321,00(56,84)	165,50(82,05)	51,50(09,50)	37,00(4,47)
SU	322,33(54,87)	136,33(36,44)	53,33(07,23)	38,50(4,37)
CI	333,68(61,27)	128,50(47,92)	55,17(10,61)	38,33(7,15)
AS	358,17(62,14)	185,50(59,95)	57,00(07,48)	35,50(6,16)
valor de p	0,3027	0,6871	0,5206	0,6969
Grupos	AST (U/L)	ALT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	
C	119,33 (42,64)	24,00(06,26)	0,497(0,10)	
AS	115,83 (28,99)	20,17(03,06)	0,485(0,08)	
ES	121,50 (58,25)	17,00(05,51)	0,478(0,07)	
SU	115,00 (26,78)	17,83(04,54)	0,508(0,05)	
CI	188,00(138,92)	23,00(12,60)	0,582(0,08)	
AS	123,67(54,43)	19,17(05,19)	0,502(0,10)	
valor de p	0,4372	0,4409	0,3308	

Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina. HDL-C: Colesterol HDL; Colesterol-T: Colesterol Total; AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase.

**Tabela 5.** Médias e desvios padrão do peso dos órgãos relativizados (g/100g de peso corporal) dos animais distribuídos nos grupos experimentais ao final do estudo.

Grupos	Rim	Pâncreas	Baço	Fígado
C	0,360(0,05)	0,165(0,03)	0,251(0,03)	3,290(0,31)
AS	0,349(0,01)	0,177(0,08)	0,258(0,03)	3,061(0,31)
ES	0,353(0,25)	0,191(0,08)	0,245(0,04)	3,026(0,16)
SU	0,353(0,02)	0,169(0,03)	0,247(0,02)	3,130(0,30)
CI	0,367(0,02)	0,147(0,07)	0,235(0,02)	3,176(0,36)
AS	0,356(0,27)	0,151(0,04)	0,233(0,02)	3,107(0,17)
valor de p	0,9216	0,8089	0,6239	0,6520

Grupos: C: Controle; AS: Aspartame; ES: Estévia; SU: Sucralose; CI: Ciclamato; SA: Sacarina.

sacarina, estévia, sucralose e ciclamato, diminuíram o consumo alimentar dos animais. O consumo alimentar reduzido pode ter sido atribuído ao fato dos adoçantes não fornecerem calorias em comparação à sacarose. Em adição, a sacarose foi substituída por amido nos grupos que receberam edulcorantes, um carboidrato complexo que fornece energia de forma mais lenta, podendo promover saciedade por maior período. Esse procedimento foi adotado com o intuito de aproximar o valor calórico das dietas dos diferentes grupos experimentais.

Os animais não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação ao ganho de

peso ao final do experimento. Porém, os Grupos AS, SU e ES exibiram menor valor médio comparados ao Grupo C. Corroborando em parte este estudo, uma pesquisa de intervenção nutricional realizada por Ruyter et al.<sup>28</sup> em crianças holandesas, mostrou que a substituição da bebida contendo açúcar por bebida sem açúcar reduziu significativamente o ganho de peso e o acúmulo de gordura corporal em crianças saudáveis.

Em relação à ingestão hídrica e à excreção urinária, não se observou diferenças estatísticas entre os grupos. Porém, na quinta semana, o Grupo SA apresentou tendência a exibir menor valor médio de ingestão

hídrica, e o Grupo SU, o maior valor. O mesmo comportamento foi identificado para o Grupo SA, da segunda à quarta semana, em relação ao Grupo AS, o qual apresentou os maiores valores médios nesse período. Esse dado mostra-se diretamente relacionado com a excreção urinária, no qual o Grupo SA também exibiu tendência estatística, na quinta semana, em apresentar menor valor médio de excreção urinária, e o Grupo AS exibiu maior valor médio da primeira à terceira semana. Dessa forma, verificou-se correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre os dados de ingestão hídrica e excreção urinária, uma vez que os animais que ingeriram menor volume hídrico exibiram menor excreção urinária (Grupo AS da 1ª à 3ª semana, 6ª semana com  $r = 0,9777; 0,9658; 0,9993; 0,9640$  – Grupo AS da 1ª à 3ª semana com  $r = 0,9245; 0,7670; 0,8528$ ).

Quanto à excreção fecal, os diferentes grupos experimentais não diferiram estatisticamente. Porém, pôde-se observar relação entre consumo alimentar do Grupo AS com a excreção fecal, sendo que este grupo apresentou menores valores médios de consumo alimentar em três semanas, coincidindo com a menor excreção fecal (3ª semana  $r = 0,7652$ ; 6ª semana  $r = 0,7403$ ).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação às concentrações séricas de glicose. Entretanto, os Grupos ES e SU exibiram os menores valores médios, com redução de 15,60% e 15,24%, respectivamente, em relação ao Grupo C. Saravanan et al.<sup>29</sup> observaram diminuição nas concentrações de glicose sanguínea e mudanças histológicas de proteção no pâncreas, em ratos induzidos ao diabetes tratados com Reb A.

Em relação ao perfil lipídico, os animais não apresentaram diferenças estatísticas significativas nas concentrações séricas de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol. O perfil lipídico e o peso corporal de ratos suplementados com extrato de *S. rebaudiana*, mostraram-se reduzidos, sugerindo que esta suplementação poderia exercer efeito antiobesidade.<sup>30</sup>

Sobre o perfil renal dos animais ao final do experimento, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, porém observou-se aumento das concentrações séricas de creatinina em 20% no Grupo CI em comparação ao Grupo Controle. Corroborando o presente estudo, Reis et al.<sup>31</sup> também não encontraram diferenças em ureia e creatina na urina de ratos que receberam sacarose ou estévia

por 45 dias. Em adição ao aumento observado no Grupo CI, destaca-se que o rim de ratos pode ser afetado por elevadas doses de ciclamato de sódio. Estudos sobre o efeito do ciclamato de sódio no rim e fígado de fetos de ratas têm indicado efeitos como nefrotoxicidade, retardo no desenvolvimento fetal e índice de maturação placentária reduzido.<sup>32</sup>

No perfil hepático, os grupos não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, resultado similar ao encontrado para a variável peso dos órgãos.

Diferentemente do que foi visto neste experimento, Abhilash et al.<sup>33</sup> realizaram um estudo com 18 ratos adultos machos com peso corporal entre 150-175g por 180 dias, divididos em três grupos, sendo este controle (água em livre demanda), outro grupo recebeu aspartame adicionado na água na proporção de 500mg/kg, e outro recebeu o aspartame adicionado na água na concentração de 1000mg/kg. Observou-se aumento significativo nas concentrações de AST e ALT dos animais que receberam o adoçante na concentração de 1000mg/kg.

Possivelmente, essa discrepância nos resultados seja decorrente do maior tempo de estudo, e da maior concentração utilizada de adoçantes na pesquisa de Abhilash et al.<sup>33</sup> em relação ao presente estudo (500 e 1000mg/kg de peso *versus* 63,83mg/kg de peso).

Como limitação do presente estudo cita-se que apesar dos roedores serem excelentes modelos biológicos para compreender a base molecular do paladar doce, roedores e humanos diferem na sua percepção de adoçantes nutritivos e não nutritivos.<sup>25</sup>

Em estudo anterior realizado pelo grupo foi utilizada a dieta padrão com a sacarose e a adição dos edulcorantes. Portanto, para avaliar os possíveis efeitos dos adoçantes sem o uso concomitante de sacarose, o amido de milho foi usado como substituição da sacarose nas dietas experimentais dos grupos. Esse fato pode ter influenciado o consumo alimentar.

## CONCLUSÕES

Os adoçantes incluídos neste estudo reduziram o consumo alimentar, sem interferência no ganho de peso final dos animais. Nas demais variáveis pesquisadas (glicose, colesterol total, HDL-colesterol, AST, ALT, creatinina), os edulcorantes não exerceram

influência. Ressalta-se, porém, que roedores possuem percepções diferentes em relação aos adoçantes quando comparados aos humanos. Desse modo,

os resultados obtidos permitem sugerir que sejam estimuladas pesquisas em humanos, utilizando diferentes tipos de adoçantes por longo prazo.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da União, Brasília, 1998.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. RDC Nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, 2012.
3. Santana FC, Silva JV, Carvalho VCB, Marins MLCL, Wartha ERS, Marcellini PS, et al. Impacto do tipo de edulcorante sobre a aceitação de biscoitos dietéticos junto a consumidores portadores e não portadores de diabetes mellitus. B.CEPPA. 2012;30(2):287-300.
4. Suplicy H. Revista da ABESO. 2011; 49 [citado 8 jul 2012]. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/pagina/339/adoçantes-artificiais.shtml>.
5. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Atribuição de aditivos edulcorantes para alimentos e seus respectivos limites máximos de uso. Resolução-RDC nº 18 de 24 de março de 2008. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília; 2008.
6. Cardello HMAB, Silva MAA, Damasio MH. Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2000;20(3):318-28. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-2061200000300008>.
7. Shankar PRD, Ajuha S, Sriram SMBBS. Non-nutritive sweeteners: review and update. Nutrition. 2013;29:1293-9.
8. Clarisse M, Di Vetta V, Giusti V. Sweeteners: between myth and reality. Rev Med Suisse. 2009;5(196):682-6. PMID:19462612.
9. Fernandes AG, Sousa PHM, Maia GA, Silva DA, Santos SML. Avaliação sensorial de bebidas de goiaba adoçadas com diferentes agentes adoçantes. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2009;29(2):358-64. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000200019>.
10. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Pariza MW, et al. Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicol. 2007;37(8):629-727. <http://dx.doi.org/10.1080/10408440701516184>. PMID:17828671.
11. Mondaca-Lemus R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food Chem. 2012;132(3):1121-32.
12. Berridge KC, Robinson TE, Aldridge JW. Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. Curr Opin Pharmacol. 2009;9(1):65-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.014>. PMID:19162544.
13. Volkow ND, Wise RA. How can drug addiction help us understand obesity? Nat Neurosci. 2005;8(5):555-60. <http://dx.doi.org/10.1038/nn1452>. PMID:15856062.
14. Avena NM, Rada P, Hoebel BG. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. Neurosci Biobehav Rev. 2008;32(1):20-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>. PMID:17617461.
15. Avena NM, Rada P, Hoebel BG. Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. J Nutr. 2009;139(3):623-8. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.108.097584>. PMID:19176748.
16. Le-Merrer J, Stephens DN. Food-induced behavioral sensitization, its cross-sensitization to cocaine and morphine, pharmacological blockade, and effect on food intake. J Neurosci. 2006;26(27):7163-71.
17. Colantuoni C, Rada P, McCarthy J, Patten C, Avena NM, Chadeayne A, et al. Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. Obes Res. 2002;10(6):478-88. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2002.66>. PMID:12055324.
18. Smith RF. Animal models of periadolescent substance abuse. Neurotoxicol Teratol. 2003;25(3):291-301. [http://dx.doi.org/10.1016/S0892-0362\(02\)00349-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0892-0362(02)00349-5). PMID:12757826.
19. Brasil. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2008.
20. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993;123(11):1939-51.
21. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LFP. Aspectos fundamentais da experimentação animal -



- aplicações em cirurgia experimental. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56(1):103-11. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302010000100024>. PMID:20339795.
22. Graph Pad Software. Graph Pad Instat Version 3.01, copyright 1992-1998. San Diego; 1998.
  23. Rodrigues FR, Saldanha T, Barbosa MIMJ. Avaliação da presença de edulcorantes nos rótulos de produtos alimentícios. *Acta Tecnológica.* 2012;7(1):38-43.
  24. Saito T, Pereira RB, Paixão MPCP. Avaliação do nível de conhecimento de portadores de diabetes mellitus sobre adoçantes. *Demetra.* 2013;8(1):39-51. <http://dx.doi.org/10.12957/demetra.2013.4239>.
  25. Fernstrom JD, Munger SD, Sclafani A, de Araujo IE, Roberts A, Molinary S. Mechanisms for sweetness. *J Nutr.* 2012;142(6):1134S-41S. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.111.149567>. PMID:22573784.
  26. Swithers SE, Sample CH, Davidson TL. Adverse effects of high-intensity sweeteners on energy intake and weight control in male and obesity-prone female rats. *Behav Neurosci.* 2013;127(2):262-74. <http://dx.doi.org/10.1037/a0031717>. PMID:23398432.
  27. Davidson TL, Martin AA, Clark K, Swithers SE. Intake of high-intensity sweeteners alters the ability of sweet taste to signal caloric consequences: implications for the learned control of energy and body weight regulation. *Q J Exp Psychol.* 2011;64(7):1430-41. <http://dx.doi.org/10.1080/17470218.2011.552729>. PMID:21424985.
  28. Ruyter JC, Olthof MR, Seidell JC, Katan MB. A trial of sugar-free or sugar-sweetened beverages and body weight in children. *N Engl J Med.* 2012;367(15):1397-406. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1203034>. PMID:22998340.
  29. Saravanan R, Vengatash babu K, Ramachandran V. Effect of Rebaudioside A, a diterpenoid on glucose homeostasis in STZ-induced diabetic rats. *J Physiol Biochem.* 2012;68(3):421-31. <http://dx.doi.org/10.1007/s13105-012-0156-0>. PMID:22374587.
  30. Park JE, Cha YS. Stevia rebaudiana Bertoni extract supplementation improves lipid and carnitine profiles in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J Sci Food Agric.* 2010;90(7):1099-105. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3906>. PMID:20393989.
  31. Reis TA, Goulart PFP, Oliveira RME, Oliveira L. Parâmetros metabólicos de ratos wistar submetidos à dieta suplementada com estêvia e açúcar. *Semina. Ciências Agrárias.* 2011;32(4):1477-88.
  32. Arruda JGF, MartinsAT, AzoubelR. Ciclamato de sódio e rim fetal. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* 2003;3(2):147-50.
  33. Abhilash M, Paul MV, Varghese MV, Nair RH. Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(6):1203-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2011.02.019>. PMID:21376768.

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Melo SS: Professora do Curso de Nutrição, Univali, Dra. em Ciência dos Alimentos, USP.

Cechinel CC: Acadêmica do Curso de Nutrição, Univali.

Gern BH: Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biotecnologia, Univali.

**Local de realização:** Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, Brasil.

**Trabalho apresentado em evento:** XII Seminário de Iniciação Científica, Itajaí, 10 de outubro de 2013.

**Fonte de financiamento:** Programa de Pesquisa PROBIC/ CNPq/UNIVALI. Edital 7/2012 Código 2720 (bolsa de pesquisa e auxílio financeiro).

**Declaração de conflito de interesse:** Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Recebido Ago. 11, 2014

Aprovado: Jun. 26, 2015