



SweetNatural

Revisão bibliográfica
Glicosídeos de Esteviol e Eritritol



Elaboração



Clarissa Tamie Hiwatashi Fujiwara

Nutricionista pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP)

Mestre em Ciências pelo Departamento de Clínica Médica na Área de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Nutricionista do Departamento de Nutrição da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO).

Coordenadora de Nutrição da Liga de Obesidade Infantil do Hospital das Clínicas da FMUSP (HCFMUSP).

Índice

3	Índice
4	Introdução
5	Edulcorantes
6	Definição
6	Stevia
11	Eritritol
13	Absorção, metabolismo e excreção
15	Ingestão Diária Aceitável (IDA) e estimativa de consumo
18	Segurança e inocuidade
18	Toxicidade aguda e crônica
19	Genotoxicidade e carcinogenicidade
20	Reprodução e teratogenicidade
24	Diabetes
30	Influência sobre o peso corporal
34	Microbiota intestinal
37	Glândula Tiroide
37	Alergenicidade
38	Prevenção de cáries
40	População pediátrica
32	Conclusão
43	Bibliografia



Introdução

A obesidade é uma doença de etiologia multifatorial decorrente da interação entre fatores genéticos e ambientais, com repercussões metabólicas e psicossociais. As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), como as doenças cardiovasculares, o diabetes e o câncer também se relacionam diretamente à perda de anos e qualidade de vida, totalizando 71% das causas de morte globalmente (WHO, 2018).

Em 2025, prevê-se que a prevalência mundial de obesidade acometa 18% dos homens e 21% das mulheres, sendo que países como o Brasil, Estados Unidos, China, Índia e Rússia responderão por 1/3 de todos os casos de obesidade em adultos. No país, estima-se que 25,2% dos homens e 31,8% das mulheres apresentem obesidade e, a projeção é que esse índice seja de 15,4% em crianças e adolescentes também em 2025, conforme dados da World Obesity Federation (WOF, 2020). Adicionalmente, a obesidade consiste num dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do Diabetes Mellitus (DM) tipo 2, assim como para o pior prognóstico da doença e, cerca de 7,4% da população brasileira apresenta diagnóstico de diabetes (BRASIL, 2019).

Como fenômeno de transição epidemiológica e nutricional, processo que acompanha mudanças econômicas, sociais e demográficas no perfil de saúde populacional, ocorreram alterações nos padrões alimentares, caracterizando-se, dentre outros aspectos, pela maior disponibilidade de alimentos ultraprocessados e hiperpalatáveis ricos em açúcares, sal e gorduras. No cenário brasileiro, os açúcares livres disponíveis nas residências perfazem cerca de 16,7% das calorias totais, excedendo a recomendação do limite de ingestão de até 10% do valor energético total da dieta (LOUZADA et al., 2015; WHO, 2015).

Os edulcorantes representam uma ferramenta útil no manejo nutricional pela característica de conferir sabor doce e propiciar diminuição na ingestão de açúcares livres, além de num contexto de alimentação equilibrada, possibilitar a redução da densidade

Tabela 1. Diferenças entre os edulcorantes.

	SACARINA	CICLAMATO	ASPARTAME	ACESULFAME K
ORIGEM	Petróleo	Ácido Ciclâmico	Proteína	Sal de Potássio
CARACTERÍSTICA	Artificial	Artificial	Artificial	Artificial
PRESENÇA DE SÓDIO	Sim	Sim	Não	Não
CONSUMO NA GESTAÇÃO	Não recomendado	Controverso	Controverso	Sem restrições
PODER ADOÇANTE SUPERIOR AO AÇÚCAR EM	300 vezes	50 vezes	200 vezes	200 vezes
RESISTÊNCIA A ALTAS TEMPERATURAS	Sim	Sim	Não	Sim
PERFIL SABOR	Amargo/Metálico	Azedo	Doce	Doce
CALORIAS (1 g)	Zero	Zero	4	Zero



energética, sem impactar negativamente na palatabilidade da dieta. O paladar desempenha um papel relevante na escolha dos alimentos e na ingestão alimentar de uma forma geral. Em humanos, assim como em diversas outras espécies, acredita-se que pela evolução natural se desenvolveu a apreciação inata pelo sabor doce - classicamente reconhecido como um dos sabores básicos detectados pelos receptores gustativos – e que apresenta o valor adicional de contribuir para o prazer geral ao comer determinado alimento ou bebida (ISA, 2018).

Diante da maior conscientização sobre a relação entre a alimentação e suas repercussões à saúde, há uma tendência em crescimento de interesse e busca dos consumidores por um estilo de vida saudável e de alternativas à sacarose por produtos naturais, de preferência associando outras propriedades funcionais, porém sem privação em termos de sabor (SARAIVA et al., 2020).

Tendo em vista de que a substituição de açúcares pode refletir em alterações perceptíveis no perfil organoléptico de um alimento ou bebida e, conseqüentemente, influenciar diretamente na aceitação do consumidor, a inovação e os avanços no desenvolvimento de edulcorantes pelo setor de alimentos são fatores proeminentes para a formulação de produtos que agreguem saudabilidade e proporcionem as características sensoriais mais alinhadas às demandas dos consumidores.

Edulcorantes

Os edulcorantes são substâncias que conferem sabor doce ao alimento, sendo utilizados para substituição parcial ou total de sacarose como, para controle de peso e em dietas com ingestão controlada ou com restrição de açúcares.

				
Planta Stevia rebaudiana	Cana-de-açúcar	Milho	Milho	Milho e Stevia Rebaudiana
Natural	Artificial	Natural	Natural	Natural
Não	Não	Não	Não	Não
Sem restrições	Sem restrições	Sem restrições	Sem restrições	Sem restrições
300 vezes	600 vezes	Igual ao açúcar	70% do açúcar	300 vezes
Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Natural da Folha	Doce	Doce	Doce	Doce
Zero	Zero	2,4	0,2	Zero

Os edulcorantes não-nutritivos, ou intensos, são aqueles que possuem um elevado poder de dulçor, sendo também denominados de edulcorantes de baixa caloria, visto que apresentam quantidade de calorias muito baixa ou quase nula, a exemplo dos glicosídeos de esteviol. Por sua vez, os edulcorantes nutritivos, ou de corpo, fornecem textura e energia aos alimentos e incluem os polióis que, embora tecnicamente forneçam calorias, podem trazer pouca ou quase nenhuma, como no caso do eritritol (FITCH et al., 2012; BRASIL, 2010).

A comparação de características entre diferentes edulcorantes é apresentada na Tabela 1.

Definição

Stevia

A stevia consiste em adoçante não calórico, utilizado há centenas de anos como parte da alimentação, sendo documentada a utilização das folhas, conhecidas como Kaá Hee ("erva doce"), em algumas regiões da América do Sul nas quais os índios as utilizavam para adoçar bebidas (como o mate e tereré) ou mastigadas devido ao sabor doce. O estudo do gênero Stevia, que inclui mais de 200 espécies diferentes, teve início no século XX, sendo a variedade com os compostos mais doces a Stevia rebaudiana Bertoni. Atualmente, as plantas de stevia são cultivadas em todo o mundo e, mais significativamente na China, Paraguai, Colômbia, Índia, Quênia e Brasil, expandindo-se também nos Estados Unidos e outros países (KENNELLY, 2002).

As folhas da Stevia rebaudiana Bertoni contêm diferentes glicosídeos de esteviol, compostos que são 200 a 450 vezes mais doces do que a sacarose (GOTO & CLEMENTE, 1998; KOYAMA et al., 2003; GOYAL et al., 2010; LEMUS-MONDACA et al., 2012; PRAKASH et al., 2014). Todos os glicosídeos de esteviol compartilham um núcleo molecular comum como estrutura de base, o esteviol (KENNELLY, 2002). O número e o arranjo das moléculas de açúcar ligadas ao núcleo esteviol consiste na diferença observada dentre os diversos glicosídeos de esteviol. A estrutura molecular e fórmula química do esteviol é apresentada na Figura 1.

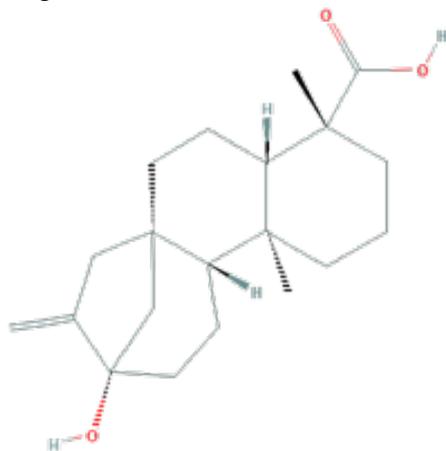


Figura 1. Estrutura molecular e fórmula química do esteviol.

Fórmula química: C₂₀H₃₀O₃

Peso molecular: 318.4 g/mol

Nomenclatura IUPAC:

(1R,4S,5R,9S,10R,13S)-13-hydroxy-5,9-dimethyl-14-methylidenetetracyclo[11.2.1.0^{1,10}.0^{4,9}]hexadecane-5-carboxylic acid

Fonte: PubChem Identifier CID 452967

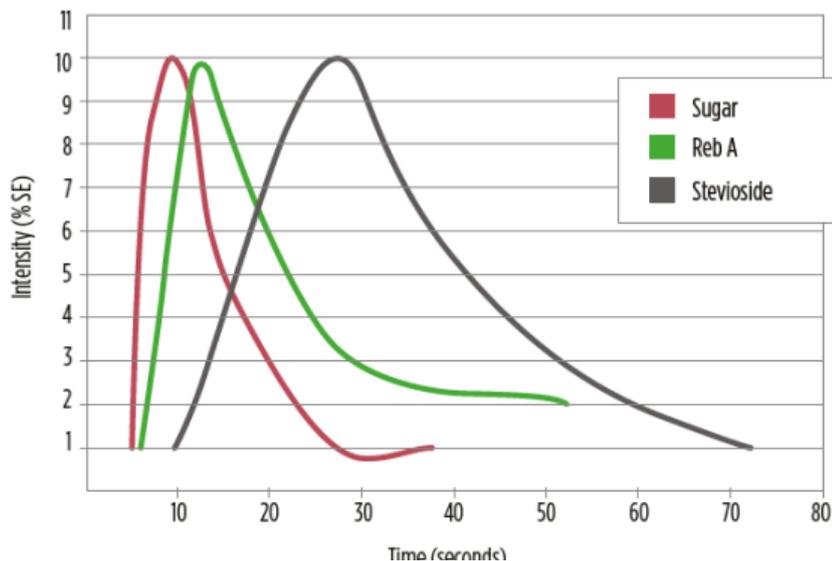


Os extratos das folhas contêm uma mistura de glicosídeos de esteviol (compondo aproximadamente 10 a 20% do peso seco total da folha) e, baseado no peso seco, os quatro glicosídeos principais são o esteviosídeo (9,1%), o rebaudiosídeo A (3,8%), o rebaudiosídeo C (0,6 - 1,0%) e o dulcosídeo A (0,3%) (PURKAYASTHA & KWOK, 2020). Outros glicosídeos menos proeminentes incluem o rebaudiosídeo M - encontrado em menos de 0,1% nas folhas – além dos rebaudiosídeos B, D, E, F, o esteviolbiosídeo e o rubusosídeo (GOYAL et al., 2010; PURKAYASTHA & KWOK, 2020).

Os glicosídeos de esteviol extraídos das folhas por meio de água, são purificados por técnicas como a cromatografia de troca iônica e/ou filtração por membranas, produzindo diferentes substâncias de sabor semelhante ao do açúcar. A stevia purificada é 100% natural, não-calórica, não-cariogênica e estável a uma ampla faixa de pH e temperatura (GOYAL et al., 2010).

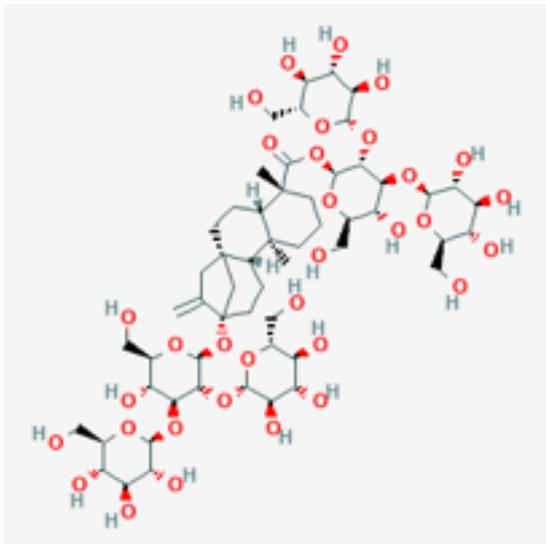
Cada um dos glicosídeos de esteviol apresenta intensidade e perfil dulçor particulares e, os primeiros adoçantes à base de Stevia rebaudiana apresentavam sabor mais amargo, pela predominância dos esteviosídeos, porém com mais estudos e aprimoramento nos processos de filtração, melhorias são realizadas visando aumentar os teores de compostos doces e reduzir o sabor residual. Como mostra a Figura 2, a curva de dulçor do rebaudiosídeo A é mais próxima ao da sacarose do que do esteviosídeo.

Figura 2. Curva de dulçor do rebaudiosídeo A, esteviosídeo e sacarose.



Em comparação ao esteviosídeo, além de sabor mais doce e menos amargo, o rebaudiosídeo A apresenta maior estabilidade, com poder dulçor 250 a 450 vezes maior em relação à sacarose (GOYAL et al., 2010; LEMUS-MONDACA et al., 2012). O rebaudiosídeo M, por sua vez, é cerca de 200 a 350 vezes mais doce que a sacarose e, apesar da menor ocorrência nas folhas de Stevia rebaudiana Bertoni pode ser associado a outros glicosídeos de esteviol para melhoramento de perfil dulçor (PRAKASH et al., 2014). A estrutura molecular e fórmula química do rebaudiosídeo A e M são apresentadas na Figura 3.

Figura 3. Estrutura molecular e fórmula química do rebaudiosídeo A e M.



Rebaudiosídeo A

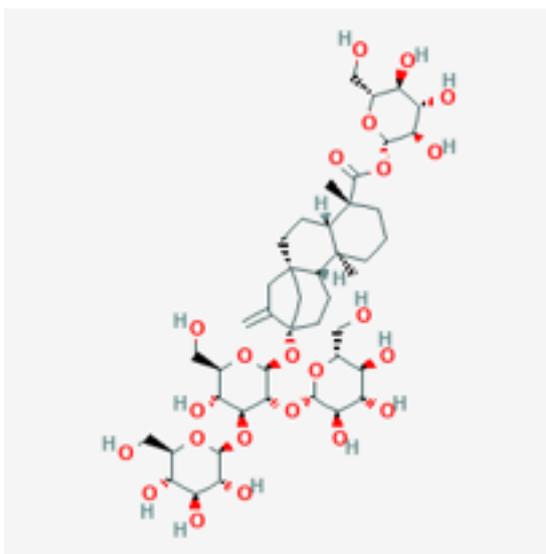
Fórmula química: C₄₄H₇₀O₂₃

Peso molecular: 967 g/mol

Nomenclatura IUPAC:

[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl] (1R,4S,5R,9S,10R,13S)-13-[(2S,3R,4S,5R,6R)-5-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,4-bis[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy]oxan-2-yl]oxy]oxy-5,9-dimethyl-14-methylidenetetracyclo[11.2.1.0¹.10.0⁴,9]hexadecane-5-carboxylate

Fonte: PubChem Identifier CID 6918840



Rebaudiosídeo M

Fórmula química: C₅₆H₉₀O₃₃

Peso molecular: 1291,3 g/mol

Nomenclatura IUPAC: [(2S,3R,4S,5R,6R)-

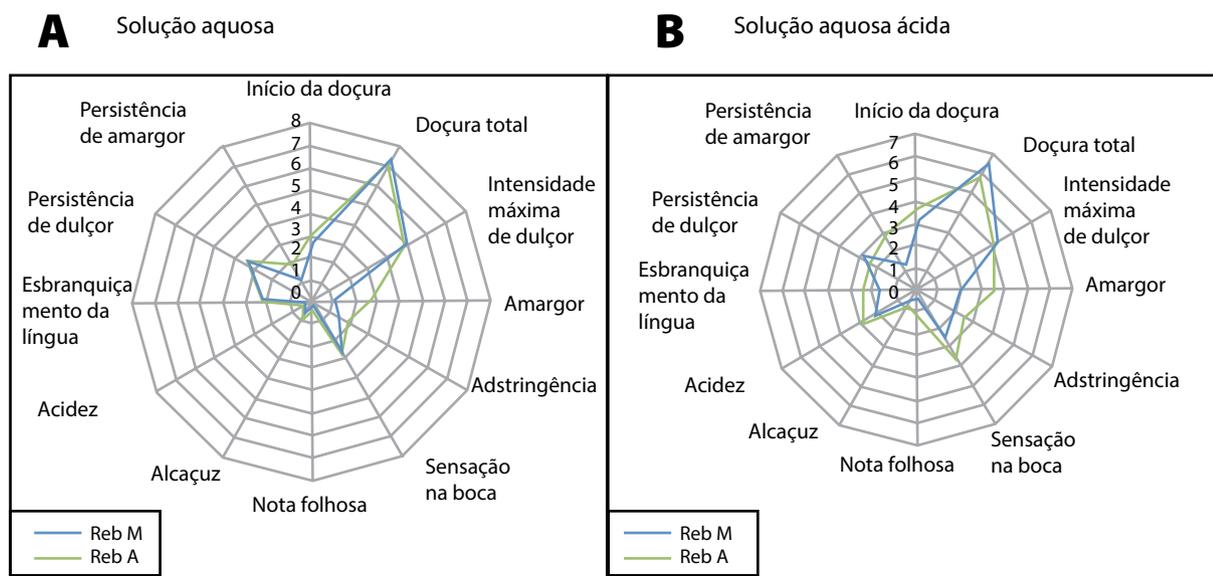
5-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,4-bis[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy]oxan-2-yl] (1R,4S,5R,9S,10R,13S)-13-[(2S,3R,4S,5R,6R)-5-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,4-bis[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy]oxan-2-yl]oxy]oxy-5,9-dimethyl-14-methylidenetetracyclo[11.2.1.0¹.10.0⁴,9]hexadecane-5-carboxylate

Fonte: PubChem Identifier CID 92023628

PRAKASH et al. (2014) avaliaram o rebaudiosídeo M isoladamente e em associação ao rebaudiosídeo A e ao eritritol por meio da análise de painel sensorial considerando diferentes características

Abaixo, a Figura 4 ilustra os atributos sensoriais do rebaudiosídeo M em comparação ao rebaudiosídeo A, em solução aquosa e em água acidificada (250 ppm de ácido cítrico, pH 3,2). Em solução aquosa neutra, o rebaudiosídeo M mostrou redução de sabor amargo e também de sua persistência, assim como menor adstringência em comparação ao rebaudiosídeo A. Em água acidificada, uma percepção superior de doçura total foi percebida com o rebaudiosídeo M, apresentando início de doçura mais rápido, menor sabor amargo, adstringente e ácido (PRAKASH et al., 2014).

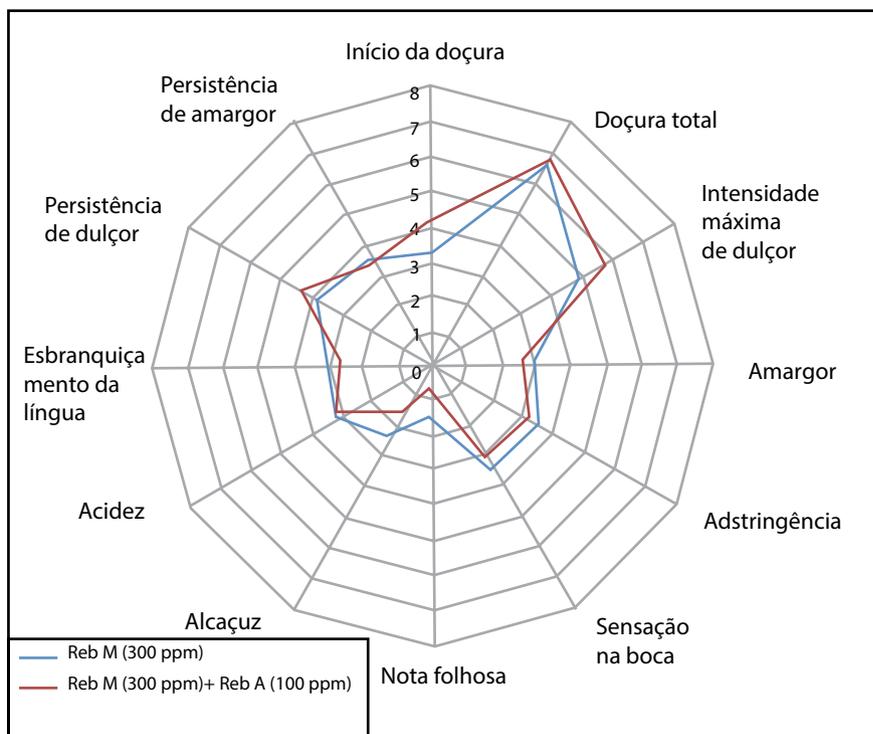
Figura 4. Painel sensorial comparativo do rebaudiosídeo M (Reb M) e rebaudiosídeo A (Reb A), em solução aquosa (A) e em solução aquosa ácida (B).



Semelhantemente, a análise de características sensoriais realizada por TAO & CHO (2020) demonstrou que o rebaudiosídeo M foi percebido com menor amargor e adstringência em comparação ao rebaudiosídeo A, apresentando perfil dulçor mais próximo ao da sacarose.

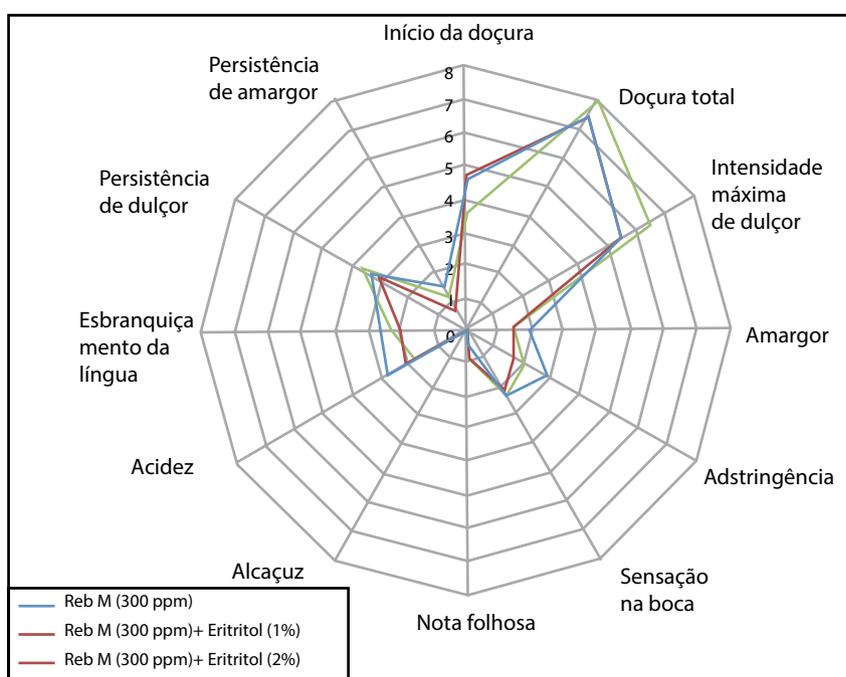
Para investigar as interações e a avaliação entre o rebaudiosídeo M com outros edulcorantes, foram realizadas misturas com o rebaudiosídeo A e, separadamente, com o eritritol em água acidificada. A associação de rebaudiosídeo M com o rebaudiosídeo A demonstrou melhorar características como a doçura total e seu pico, concomitantemente à amenização de sabor amargo e adstringência em comparação ao rebaudiosídeo M isolado (PRAKASH et al., 2014), conforme apresentado na Figura 5.

Figura 5. Painel sensorial do rebaudiosídeo M (Reb M) isolado e combinado ao rebaudiosídeo A (Reb A).



A combinação do rebaudiosídeo M com o eritritol, por sua vez, independentemente da concentração de eritritol, auxiliou na redução da acidez, adstringência, sabor amargo e persistência do sabor amargo quando em comparação ao rebaudiosídeo M somente (PRAKASH et al., 2014). A descrição do perfil sensorial do rebaudiosídeo M e eritritol pode ser observada na Figura 6.

Figura 6. Painel sensorial do rebaudiosídeo M (Reb M) isolado e combinado ao eritritol.



Eritritol

O eritritol faz parte do grupo de polióis (ou álcoois de açúcar ou polihídricos) que são originados da redução de açúcares simples ou complexos em que um grupo hidroxila substitui a função aldeído ou cetona (ZUMBÉ et al., 2001). Os polióis são classificados em monossacarídeos hidrogenados (eritritol, xilitol, sorbitol e manitol), dissacarídeos hidrogenados (maltitol, lactitol e isomalte) e misturas de mono- di- e/ou oligossacarídeos, tais como hidrolisados de amido hidrogenado (SHANKAR et al., 2013). O eritritol é composto por 4 átomos de carbono acompanhado de um grupo hidroxila e a Figura 7 apresenta a estrutura molecular e fórmula química.

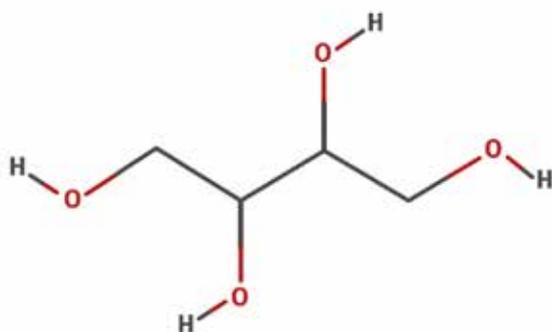


Figura 7. Estrutura molecular e fórmula química do eritritol.

Fórmula química: C₄H₁₀O₄

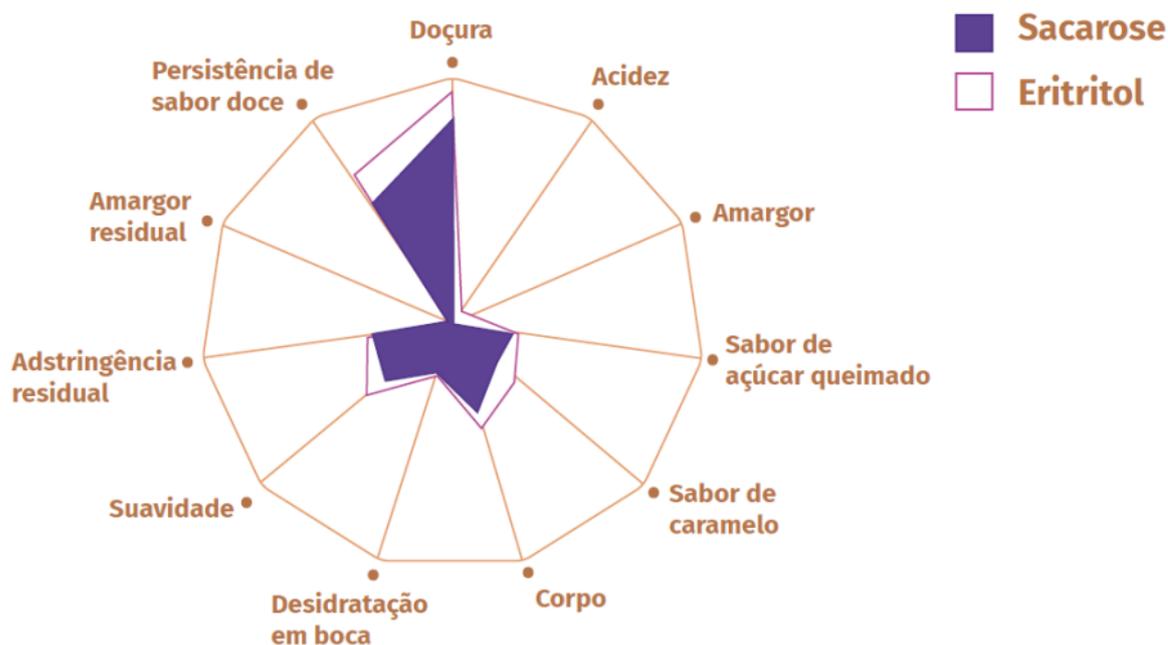
Nomenclatura IUPAC: (2R, 3S)-butane-1,2,3,4-tetraol

Fonte: PubChem Identifier CID 8998

Embora o eritritol tenha sido isolado primeiramente no ano de 1852 e pesquisas acerca dos efeitos à saúde publicados, sobretudo, a partir da metade do século XX, foi na década de 90 que o uso do eritritol recebeu destaque com a perspectiva de uso como edulcorante natural. Atualmente, o eritritol é utilizado na indústria alimentícia, de cosméticos e farmacêutica (BOESTEN et al., 2015).

O eritritol consiste numa substância cristalina branca, anidra, não-higroscópica, disponível na forma em pó e granular. Por não apresentar grupos cetonas ou aldeídos redutores, não possui substrato para ocorrência de reações de Maillard (escurecimento não enzimático). Quanto às características organolépticas, apresenta-se sem sabor residual e com sensação de refrescância quando dissolvido na boca devido ao calor negativo de dissolução. Adicionalmente, é utilizado em associação a outros edulcorantes, como recurso para contrabalancear possíveis sabores indesejáveis. (SCHIWECK et al., 2012; GREMBECKA, 2015; REGNAT et al., 2018). O eritritol possui cerca de 60 a 70% do dulçor em comparação à sacarose (SCHIWECK et al., 2012; BOESTEN et al., 2015). A Figura 8 ilustra o perfil de doçura do eritritol e da sacarose, sendo observada similaridade entre os perfis de ambas (SCHIWECK et al., 2012).

Figura 8. Perfil sensorial do eritritol e da sacarose em solução a 10% (p/V).



Observa-se a regulamentação da rotulagem nutricional do eritritol variável conforme o país. Assim como nos EUA, Austrália e Nova Zelândia, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera os valores de 0,2 kcal/g (0,8 kJ/g) como fator de conversão para o cálculo do valor energético do eritritol (BRASIL, 2010). Em paralelo, o Japão e a União Europeia estabelecem esse valor como 0 kcal/g (0 kJ/g).

Em virtude das particularidades nas características, os edulcorantes podem ser encontrados de forma isolada ou, combinados entre si, na forma de blend. Os rebaudiosídeos A e M apresentam elevado poder de dulçor, sem adição de calorias e, quando utilizados sinergicamente com o eritritol propiciam aprimoramento no perfil organoléptico. Tanto os rebaudiosídeos A e M, quanto o eritritol têm aplicação numa ampla variedade de alimentos e bebidas devido à estabilidade do ponto de vista de temperatura e pH. O eritritol demonstra ser um agente de volume interessante em razão da capacidade de não impactar negativamente os atributos sensoriais, além de não apresentar sabor residual nem calorias.

Junto ao eritritol, a escolha do rebaudiosídeo M tem a finalidade de realçar características desejáveis juntamente ao rebaudiosídeo A, amenizando possível sabor amargo, enquanto concilia dulçor similar à sacarose.

Absorção, metabolismo e excreção



As enzimas digestivas da boca, do estômago e do intestino delgado são incapazes de hidrolisar os glicosídeos de esteviol devido à presença de ligações β -glicosídicas (PRAKASH et al., 2014). Entretanto, tanto os esteviosídeos quanto o rebaudiosídeo A não são absorvidos intactos e sim hidrolisados a esteviol pela microbiota intestinal no cólon de ratos e humanos via remoção sucessiva de unidades de glicose (GENUS et al., 2007). O rebaudiosídeo M segue o destino metabólico com hidrólise para esteviol similarmente ao rebaudiosídeo A (PURKAYASTHA et al., 2016; ESFA, 2020). No fígado, o esteviol sofre conjugação com ácido glicurônico formando o glicuronídeo de esteviol (EFSA, 2010).

Purkayastha et al. (2015) conduziram testes de incubação *in vitro* em amostras fecais homogeneizadas de doadores caucasianos e asiáticos com os glicosídeos de esteviol rebaudiosídeo A, rebaudiosídeo E, esteviolbiosídeo e, concluíram que todos os glicosídeos foram completamente metabolizados em esteviol num período de 24 horas, não sendo observadas diferenças na taxa de metabolismo entre os voluntários decorrentes de fatores étnicos.

Paralelamente, num ensaio avaliando os rebaudiosídeos A, B, C, D, E, F, M, esteviolbiosídeo e dulcosídeo A em amostras fecais homogeneizadas coletadas de homens e mulheres, encontrou-se que todos os glicosídeos foram hidrolisados a esteviol ao longo de 24 a 48 horas de incubação. Nenhum dos glicosídeos apresentou taxa de hidrólise notadamente distinta dentre si, fato que poderia ocasionar uma rápida absorção de esteviol e, conseqüentemente, saturar a taxa de glucuronidação e formação de glicuronídeos de esteviol. Esse dado é consistente com a observação de que, exceto pelas diferenças entre os números e tipos de frações de açúcar, os glicosídeos de esteviol compartilham a mesma base estrutural. (PURKAYASTHA et al., 2016).

A hidrólise *in vitro* de rebaudiosídeo A e esteviosídeo em condições anaeróbicas por um período de 72 horas em amostras fecais homogeneizadas de adultos (n = 11) demonstrou que as substâncias foram completamente degradadas a esteviol em até 24 horas, ao passo que o esteviol permaneceu inalterado, sem degradação pela microbiota colônica durante período de incubação de 72 horas (GARDANA et al., 2003).

Roberts et al. (2016) conduziram estudo *in vivo* em ratos Sprague-Dawley e em voluntários humanos aos quais foram administrados por via oral dose única de esteviosídeo (em equivalentes de esteviol 16 mg/kg por kg de peso corporal) e coletadas amostras de plasma ao longo das 72 horas seguintes. As concentrações máximas de esteviol foram semelhantes entre ratos e humanos e, para o glicuronídeo de esteviol, os valores foram aproximadamente 25 vezes maiores em humanos do que em ratos (4.400 ng/mL vs. 180 ng/mL), indicando que a velocidade da glucuronidação é maior em humanos do que em ratos (ROBERTS et al., 2016).

Em humanos, WHEELER et al. (2008) conduziram um estudo clínico randomizado para comparar o metabolismo do rebaudiosídeo A e esteviosídeo. Foi observada a presença de glicuronídeo de esteviol no plasma, o qual foi eliminado de maneira semelhante para os dois glicosídeos de esteviol, apresentando meia-vida média de 14 horas. O glicuronídeo de esteviol foi excretado predominantemente na urina dos indivíduos durante o período de coleta de 72 horas, correspondendo a 59 e 62% das doses ingeridas de rebaudiosídeo A e de esteviosídeo, respectivamente, enquanto cerca de 5% de ambos glicosídeos de esteviol foi eliminada nas fezes na forma de esteviol livre. Parte do esteviol pode ser reabsorvida e retorna ao fígado pela circulação entero-hepática, sendo excretado pela bile, não havendo indícios de acúmulo de derivados de glicosídeos de esteviol no organismo (EFSA, 2010).

O metabolismo dos glicosídeos de esteviol se mostrou semelhante em estudos com ratos e em humanos, indicando a validade do modelo animal para estudos de toxicidade. A distinção, no entanto, é que em ratos a excreção de glicuronídeo de esteviol ocorre principalmente nas fezes via trato biliar, enquanto em humanos, ocorre predominantemente na urina (RENEWICK, 2008).

Com a finalidade de investigar se há diferenciação no metabolismo de glicosídeos de esteviol entre crianças e adultos de, respectivamente, 2 a 3 anos e 22 a 66 anos de idade, PURKAYASTHA & KWOK (2020) examinaram por meio de estudo in vitro a partir de amostras fecais homogeneizadas, o metabolismo anaeróbico de glicosídeos de esteviol contendo principalmente os rebaudiosídeos M e D, além de rebaudiosídeos A. Demonstrou-se em todas as amostras, a deglicosilação dos rebaudiosídeos em esteviol ao longo de 12 a 72 horas de incubação, confirmando o mesmo destino metabólico na presença de microbiota colônica coletada dos adultos e crianças (PURKAYASTHA et al., 2020).

A absorção do eritritol ocorre no intestino delgado por meio de difusão passiva, sendo então distribuído pelo organismo, atingindo concentrações plasmáticas máximas nas primeiras 2 horas após a ingestão (BERNT et al., 1996). Nos seres humanos, estima-se que cerca de 90% do eritritol seja excretado pelo organismo através da urina sem gerar alterações nos níveis de glicose e insulina no sangue e que, 10% entre no cólon, sendo eliminado pelas fezes, parte estando sujeita à fermentação pela microbiota (Figura 9) e, ainda é possível que fração sofra uma reação metabólica reversível como a desidrogenação em eritrolose (MOON et al., 2010; MIHOOLLIYA et al., 2019).

Figura 9. Esquema do metabolismo do eritritol.





Diferentemente de outros polióis, o eritritol apresenta como característica a maior tolerância em relação a efeitos gastrointestinais. Atribui-se essa característica ao fato de que apenas uma pequena fração do eritritol chega ao cólon, enquanto outros polióis, de forma geral, são menos absorvidos, sendo capazes de provocar efeitos gastrointestinais indesejáveis especialmente quando consumidos em quantidades excessivas. Estes efeitos ocorrem devido à formação de gás por fermentação ou como resultado de efeitos osmóticos, gerando sintomas laxativos (BOESTEN et al., 2015).

Estudos clínicos indicam que a ingestão de eritritol é bem tolerada, não provocando efeitos colaterais gastrointestinais em níveis de consumo de 2 a 4 vezes maiores em comparação a outros polióis (SCHIWECK et al., 2012). Em voluntários adultos, o efeito da ingestão de eritritol de até 1,0 g/kg p.c./dia (totalizando 78 g/dia), em doses fracionadas durante 5 dias consecutivos, não foi estatisticamente diferente em comparação com indivíduos que ingeriram a quantidade equivalente de sacarose (TETZLOFF et al., 1996). Em estudo clínico randomizado duplo-cego, o consumo de 20 e 35 g de eritritol diluído em meio líquido por voluntários saudáveis (n = 70), mostrou-se bem tolerado, sem a observação de sintomas intestinais e fezes aquosas em comparação ao grupo controle, que recebeu sacarose. No nível mais elevado de ingestão de eritritol, na dose de 50 g, verificou-se somente o aumento de sintomas como ruído causado pela presença de gases e náusea (STOREY et al., 2006).

Ingestão Diária Aceitável (IDA) e estimativa de consumo

A utilização de edulcorantes em produtos alimentícios é aprovada no país pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que considera a Ingestão Diária Aceitável (IDA) dos aditivos estabelecida pelo Comitê Conjunto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - JECFA), órgão que avalia os estudos de segurança para o uso de aditivos em alimentos. A IDA é definida como a quantidade estimada máxima que uma substância pode ser ingerida diariamente, durante toda a vida de um indivíduo, sem oferecer risco à saúde, sendo expressa em mg/kg de peso corporal (p.c.) (ANVISA, 2008).

Nos Estados Unidos, a Food and Drug Administration (FDA), agência regulatória responsável pela avaliação da segurança de edulcorantes com base em estudos toxicológicos, autoriza o uso de glicosídeos de esteviol como edulcorante, incluindo o rebaudiosídeo A e rebaudiosídeo M como Geralmente Reconhecido como Seguro (Generally Recognized



as Safe - GRAS) (FDA 2018). Adicionalmente, a segurança dos glicosídeos de esteviol foi avaliada extensivamente e é apoiada por órgãos científicos de agências reguladoras, como a European Food Safety Authority (EFSA), Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) e Health Canada (EFSA, 2010; FSANZ, 2015; Health Canada, 2012).

O JECFA autoriza o uso de glicosídeos de esteviol como não menos que 95% na base seca de esteviosídeo, rebaudiosídeos A, B, C, D, E, F e M, esteviolbiosídeo, rubusosídeo, dulcosídeo A, em qualquer combinação e proporção (JECFA, 2020). É estabelecida a IDA para os glicosídeos de esteviol (expresso como equivalentes de esteviol) de 4 mg/kg de peso corporal (EFSA, 2010; JECFA, 2017).

Uma análise conduzida pela EFSA determinou a exposição dietética média aos glicosídeos de esteviol na população, que variou entre 0,4 e 1,3 mg/kg p.c./dia em crianças e entre 0,3 e 0,7 mg/kg p.c./dia em adultos, incluindo indivíduos com diabetes. Na maior faixa de percentil de ingestão (P90 - 97,5), a exposição variou entre 1,5 e 4,2 mg/kg p.c./dia em crianças e entre 1,5 e 3,1 mg/kg p.c./dia em adultos (EFSA, 2010).

Em paralelo, a avaliação do consumo de rebaudiosídeo M com base em dados de produção, considerou que o consumo per capita de açúcares nos Estados Unidos seja de até 141 g/dia (USDA/ARS, 2016). Supondo que o rebaudiosídeo M substitua todo o consumo de açúcar e apresente uma equivalência de doçura entre 200 e 350 vezes ao da sacarose, isso corresponderia a uma ingestão de rebaudiosídeo M expressa em equivalentes de esteviol de 1,4 para 2,5 mg/kg p.c./dia (assumindo peso corporal médio de 70 kg). Considera-se essa estimativa da ingestão de rebaudiosídeo M conservadora, uma vez que é improvável que o rebaudiosídeo em questão substitua completamente o consumo de açúcares (FDA, 2019).

Adicionalmente, por meio de estimativa baseada na ingestão de rebaudiosídeo M substituindo a ingestão de outros adoçantes não-calóricos, dados publicados sobre exposições dietéticas a adoçantes, estimou-se a ingestão média de rebaudiosídeo M expressa em equivalentes de esteviol variando para adultos e crianças não diabéticos, respectivamente, de 0,18 a 0,85 mg/kg e 0,30 a 1,24 mg/kg p.c./dia. A ingestão estimada apresentada para a população de adultos e crianças com diabetes também se mostraram seguras e inferiores à IDA para equivalentes de esteviol (RENEWICK, 2008; FDA, 2019).

Em paralelo, o uso do eritritol é aprovado no Brasil e em mais de 60 países, sendo considerado como GRAS pela FDA, ao passo que o JECFA estabelece para o eritritol a IDA "não especificada", a categoria de segurança mais alta possível (BRASIL, 2008; REGNAT et al., 2018; JECFA, 2000).

Estima-se que, nos Estados Unidos, o consumo de eritritol de ocorrência natural em alimentos - como melões, pêras, uvas e em produtos fermentados, como vinho, saquê e molho de soja - seja de 80 mg/dia ou, aproximadamente, 1,3 mg/kg p.c./dia. O eritritol também pode ser encontrado endogenamente em tecidos humanos e de animais e em fluidos corporais, incluindo urina, sangue e líquido cefalorraquidiano (BERNT et al., 1996; SCHIWECK et al., 2012).

Esta revisão traz informações sobre os edulcorantes Stevia e Eritritol, pois ambos compõem um novo adoçante, chamado SweetNatural, composto apenas por edulcorantes naturais. Ele soma a potência de dulçor dos Glicosídeos de esteviol (Rebaudiosídeo-M e Rebaudiosídeo-A) ao sabor suave de Eritritol. Ele é vegano e apresenta zero calorias.

Considerando que a IDA de eritritol não é especificada, foi utilizada apenas a IDA dos glicosídeos, equivalente a 4mg/kilo de peso. Considerando o cálculo para uma pessoa de 70 kilos, as quantidades de consumo diárias serão:

Versão Pó (sachê): 9,0 sachês de 0,6 g

Versão Líquido: 178 gotas

Versão Culinário: 7,0 colher de sopa de 12g





Segurança e inocuidade

Toxicidade aguda e crônica

Em modelo animal, Curry & Roberts (2008) conduziram estudo durante 4 semanas com ratos Wistar que receberam rebaudiosídeo A em concentrações crescentes de até 100.000 ppm, além de estudo de 13 semanas com níveis até 50.000 ppm, cerca de 4.161 e 4.645 mg/kg p.c./dia a ratos machos e fêmeas, respectivamente. Em ambos ensaios, não foram relatados sinais clínicos de toxicidade, mudanças em parâmetros bioquímicos e hematológicos, assim como achados histopatológicos nos rins e fígado. Observou-se associação de altas doses da substância com redução de peso em machos e fêmeas, atribuível à alteração da palatabilidade e diminuição da densidade calórica da dieta. Nikiforov & Eapen (2008) investigaram a toxicidade de rebaudiosídeo A em doses de 500 até 2.000 mg/kg p.c./dia em ratos Sprague-Dawley durante 90 dias. A administração de altas doses não afetou nenhum parâmetro hematológico, bioquímico e não induziu alterações histopatológicas em nenhum órgão avaliado.

A avaliação em modelo animal, com ratos, camundongos e hamsters, acerca da toxicidade aguda do esteviosídeo e esteviol realizada por Toskulkao et al. (1997), demonstrou que doses muito altas de esteviosídeo (15 g/kg p.c./dia) não demonstraram letalidade. Foi observado unicamente nos hamsters, particularidade na histopatologia renal que mostrou degeneração de células tubulares proximais induzida pelo esteviol, por sua vez, alterações correlacionadas com aumentos na creatinina e uréia séricas. Não obstante, doses muito elevadas de esteviol foram consideradas não tóxicas para os ratos e camundongos e não induziram alterações histopatológicas hepáticas ou renais.

Em relação ao eritritol, os experimentos em modelos animais evidenciam que o poliol é absorvido, não metabolizado sistemicamente e excretado por via urinária, denotando um alto grau de similaridade com humanos, apoiando o uso de modelos animais para a avaliação da segurança do eritritol (MUNRO et al., 1998; EFSA, 2015). A toxicidade do eritritol foi avaliada em ratos Wistar, aos quais, por meio da administração de dietas contendo 5 ou 10% de eritritol por 28 dias, foram verificados sintomas como fezes amolecidas e diarreia na dosagem mais elevada, todavia, os efeitos gastrointestinais se mostraram limitados e reduziram ao longo do estudo. Não foram observadas alterações significativas em parâmetros hematológicos, clínicos, histopatológicos ou influência na mortalidade dos animais (TIL e MODDERMAN, 1996).

Investigou-se a toxicidade crônica ao eritritol mediante a administração de 2, 5 ou 10% (aproximadamente 0,7, 1,8 ou 3,5 g/kg p.c./dia) do poliol à dieta de cães Beagle durante o período de 53 semanas. O eritritol se mostrou bem tolerado em todas as dosagens administradas, sem evidência de sintomas gastrointestinais ou variação nos parâmetros



bioquímicos e histopatológicos (DEAN et al., 1996).

EAPEN et al. (2017) conduziram estudo de toxicidade aguda e subcrônica em cães Beagle por meio da administração oral de eritritol nas doses de 0, 1,25, 2,5 e 5,0 g/kg p.c./dia. Ao longo de 13 semanas de estudo, a administração de eritritol foi associada ao aumento do débito urinário que, por sua vez, se correlacionou com o incremento no consumo de água e a concentração plasmática máxima de eritritol. Não houve mortalidade ou mudanças significativas nos parâmetros da análise urinária, oftalmológica, frequência cardíaca e respiratória decorrente do consumo de eritritol por cães.

Genotoxicidade e carcinogenicidade

O potencial genotóxico, isto é, a capacidade de induzir alterações no DNA, foi examinado por Brusick (2008) por meio de revisão encontrando que, os glicosídeos de esteviol rebaudiosídeo A e esteviosídeo não são genotóxicos in vitro e não demonstraram evidências de genotoxicidade em estudos in vivo de alta qualidade, além de que tanto rebaudiosídeo A quanto o esteviosídeo não induziram efeitos mutagênicos mesmo em doses elevadas in vivo. Em síntese, a revisão das evidências concluiu que os glicosídeos de esteviol não estão associados com risco de danos genéticos sendo, portanto, seguros para consumo humano (Brusick, 2008). Semelhantemente, em revisão de dados de genotoxicidade conduzida por Urban et al. (2013), os glicosídeos de esteviol não apresentaram potencial genotóxico com base em ensaios in vitro e in vivo.

Uçar et al. (2018) investigaram o potencial genotóxico a partir de linfócitos obtidos do sangue venoso de doadores adultos saudáveis. As células foram expostas a diferentes concentrações de glicosídeos de esteviol e cultivadas por um período de 72 horas. Em teste de aberração cromossômica e teste de micronúcleo, os autores não observaram diferenças no número de aberrações cromossômicas ou micronucleações em qualquer concentração de teste com os glicosídeos de esteviol.

A avaliação do rebaudiosídeo A por Rumelhard et al. (2016) por ensaio de mutação reversa bacteriana (ou teste de Ames), amplamente empregado para avaliação genotóxica in vitro de curta duração, não demonstrou efeito genotóxico da substância. Complementarmente, a administração em doses extremamente elevadas de rebaudiosídeo A a ratos Sprague-Dawley por 90 dias em níveis de consumo diários de até 2.057 mg/kg p.c. para machos e 2.023 mg/kg p.c. para fêmeas, não levou a nenhum efeito adverso, sugerindo com base nos resultados, perfil de segurança observado a partir do rebaudiosídeo A mesmo em doses mais elevadas que a IDA estabelecida.

Um estudo em ratos Wistar machos e fêmeas avaliou a toxicidade crônica e carcinogenicidade do esteviosídeo, por meio da administração de dietas contendo a substância em concentrações crescentes até 1,2% (cerca de 794 mg/kg p.c./dia) durante 2 anos. Não foram encontrados sinais de toxicidade ou diferenças quanto à incidência e



gravidade de tumores (XILI et al., 1992).

Toyoda et al. (1997) realizaram estudo em ratos F344 com administração de concentrações crescentes de esteviosídeo de 0 (controle), 2,5 e 5% durante 26 meses. A sobrevida média não diferiu entre os grupos mesmos com as doses mais elevadas do glicosídeo de esteviol em 5% da dieta (2.387 e 1.997 mg/kg p.c./dia, respectivamente, para machos e fêmeas). Com exceção de uma menor incidência de adenocarcinoma de mama entre fêmeas e de menor gravidade da nefropatia crônica em machos nas duas doses testadas, o esteviosídeo não foi associado a outras alterações ou desenvolvimento de tumores. Os tumores desenvolvidos pelos animais ao longo do período de estudo e avançar da idade - por exemplo, tumores testiculares em ratos F344, são típicos destas espécies e linhagens - indicam que os achados foram negativos quanto à carcinogenicidade induzida pelo esteviosídeo (TOYODA et al., 1997; EFSA, 2010).

O eritritol foi avaliado em diferentes ensaios de genotoxicidade in vitro e in vivo por CHUNG & LEE (2013). A investigação do eritritol em cepas de *Salmonella typhimurium* com concentrações de até 5.000 µg de eritritol/placa não detectou indução de mutações gênicas. Em ensaio que examinou o poliol in vitro em concentrações de até 5.000 µg/mL em linha de células de fibroblastos de hamster, o eritritol não demonstrou atividade clastogênica em testes de aberração cromossômicas. Em adição, em ensaio cometa por meio de células em concentrações de eritritol em 1.250, 2.500 e 5.000 µg/mL, não houve genotoxicidade às células. Por fim, avaliou-se o poliol via teste de micronúcleo in vivo no qual a administração de até 5.000 µg/mL de eritritol não induziu a formação de micronúcleos em células da medula óssea de camundongos. Considerando a avaliação dos resultados conjuntos, o eritritol não apresentou efeito mutagênico para células bacterianas e não causou danos cromossômicos em células de mamíferos em ensaios in vitro e in vivo (CHUNG & LEE, 2013).

Paralelamente, o estudo da toxicidade e carcinogenicidade realizado em ratos Wistar que receberam eritritol em 2, 5 ou 10% da dieta (respectivamente, 1,0, 2,5 ou 5,0 g/kg p.c./dia), não evidenciou efeitos de toxicidade num período de até dois anos. Não houve evidência de carcinogenicidade por nenhuma alteração neoplásica observada pelos exames histopatológicos atribuídos à ingestão de eritritol em até 5,0 g/kg p.c./dia (LINA et al., 1996).

Reprodução e teratogenicidade

A segurança do consumo de glicosídeos de esteviol na reprodução e desenvolvimento, a teratogenicidade de esteviosídeo em ratos, foi observada pela administração por gavagem de doses de 250, 500 e 1.000 mg/kg p.c./dia entre o 6º e 15º dia da gestação e e grupo controle que não recebeu a substância. O esteviosídeo não causou má-formação fetal e não houve indícios de toxicidade nas mães e na prole (USAMI et al., 1995).

O efeito no crescimento e reprodução da administração de diferentes doses de esteviosídeo até 2,5 g/kg p.c./dia foi investigado em sucessivas gerações de hamsters



machos e fêmeas. Nenhuma anormalidade quanto ao crescimento e fertilidade foi descrita em ambos os sexos e, a duração da gestação, o número de fetos e de nascimentos não diferiram em comparação ao grupo controle. A análise histológica de tecidos do sistema reprodutivo de animais de todas as gerações demonstrou ausência de anormalidades associadas à ingestão de esteviosídeo (YODYINGYUAD & BUNYAWONG, 1991).

A segurança do consumo de glicosídeos de esteviol na reprodução e desenvolvimento, a teratogenicidade de esteviosídeo em ratos, foi observada pela administração por gavagem de doses de 250, 500 e 1.000 mg/kg p.c./dia entre o 6º e 15º dia da gestação e e grupo controle que não recebeu a substância. O esteviosídeo não causou má-formação fetal e não houve indícios de toxicidade nas mães e na prole (USAMI et al., 1995).

O efeito no crescimento e reprodução da administração de diferentes doses de esteviosídeo até 2,5 g/kg p.c./dia foi investigado em sucessivas gerações de hamsters machos e fêmeas. Nenhuma anormalidade quanto ao crescimento e fertilidade foi descrita em ambos os sexos e, a duração da gestação, o número de fetos e de nascimentos não diferiram em comparação ao grupo controle. A análise histológica de tecidos do sistema reprodutivo de animais de todas as gerações demonstrou ausência de anormalidades associadas à ingestão de esteviosídeo (YODYINGYUAD & BUNYAWONG, 1991).

Curry et al. (2008) administraram rebaudiosídeo A à dieta de ratos Wistar machos e fêmeas em concentrações de 0 (controle) a 25.000 ppm ao longo de duas gerações. O tratamento não foi associado com sinais de toxicidade ou com efeitos adversos sobre o peso corporal e o consumo alimentar. Em ambas as gerações não se observaram quaisquer efeitos sobre o desempenho reprodutivo, a fertilidade, a duração da gestação, o ciclo estral e a motilidade e concentração do esperma. Adicionalmente, nenhuma influência foi observada na sobrevivência pré e pós-natal da prole. Com base nas evidências disponíveis, os autores concluem que esteviosídeo e rebaudiosídeo A não oferecem risco à saúde reprodutiva, sendo seguros durante a gestação quando consumidos dentro da IDA (FDA, 2009; EFSA, 2010).

Em relação ao eritritol, para a investigação quanto à teratogenicidade, administrou-se a ratas Wistar prenhes eritritol na concentração de 2,5, 5 ou 10% na dieta (aproximadamente 1,7, 3,3 ou 6,6 g/kg p.c./dia) no início até o 21º dia de gestação. Não foi observada influência na mortalidade, sobre o ganho de peso durante a gestação, bem como anormalidades externas, viscerais e esqueléticas nos fetos, sem evidência de efeitos fetotóxicos, embriotóxicos ou teratogênicos do eritritol em comparação ao grupo controle (SMITS-VAN PROOIJJE et al., 1996).

O eritritol foi examinado em estudo reprodutivo de duas gerações com ratos Wistar de ambos os sexos aos quais o poliol foi administrado em concentrações 2,5, 5 ou 10% na dieta, não sendo demonstradas alterações macro ou microscópicas em órgãos reprodutivos, assim como incidência de anormalidades da prole, demonstrando ausência de efeito sobre a fertilidade ou desempenho reprodutivo em ratos progenitores ou em sua progênie (WAALKENS-BERENDSEN et al., 1996).

Num trabalho que examinou em coelhas prenhas a administração por via intravenosa de 1,0, 2,2 ou 5,0 g/kg p.c./dia do eritritol durante o 6º ao 18º de gestação, não foi demonstrada influência do eritritol em testes do peso corporal e de órgãos, número de corpos lúteos ou



índice de implantação e, portanto, o desempenho reprodutivo das mães e o desenvolvimento fetal não foi influenciado pelo poliols (SHIMIZU et al., 1996).

BRUSATI et al. (2005) conduziram estudo observacional em mulheres gestantes (n = 50) mensurando as concentrações plasmáticas fetais e maternas de polióis em gestações sem complicações e a termo. As diferenças na concentração de polióis materno-fetal, bem como se havia captação fetal ou placentária significativa dos polióis foram determinadas por meio de amostras de sangue da artéria e veia umbilical e de sangue periférico materno coletadas no momento da cesariana eletiva. A concentração fetal de inositol, sorbitol e eritritol mostrou-se maior que a concentração materna e todos os recém-nascidos apresentaram parâmetros de oxigenação e de equilíbrio ácido-base dentro da faixa de normalidade, além de peso ao nascimento adequados. No estudo, embora no estudo não tenha sido mencionado ou avaliado se as participantes consumiam habitualmente o eritritol, a presença desse poliols poderia ser atribuída à síntese endógena das células a partir da glicose pela via das pentoses-fosfato (HOOTMAN et al., 2017). As evidências, muito embora, apresentem-se limitadas acerca dos efeitos dos polióis durante a gravidez em humanos, denotam que provavelmente esses compostos sejam seguros para consumo devido à presença de polióis em amostras maternas e de fetos em gestações normais (BRUSATI et al., 2005; POPE et al., 2014).

É documentada a presença, advindos do organismo materno, do eritritol na placenta de animais ruminantes (BARBIER et al., 2017), de polióis como sorbitol, manitol, inositol e eritritol no plasma fetal de ovelhas (BROWN et al., 2014) e do eritritol, manitol, sorbitol e inositol, no leite materno (CAVALLI et al., 2006) e no plasma de neonatos saudáveis nascidos de mães com diabetes (BROWN et al., 2008). A observância destes compostos sugere que polióis possam atuar no metabolismo fetal e de recém-nascidos. O inositol, em culturas de células humanas é essencial para o crescimento e, demonstra redução do risco de doença pulmonar crônica e retinopatia em bebês prematuros (HOWLETT et al., 2019), assim como diminuição do risco de defeitos do tubo neural no diabetes gestacional (GROENEN et al., 2003). Investigações adicionais são necessárias para definir a importância biológica dos polióis no metabolismo neonatal (BROWN et al., 2008).





Diabetes

Um dos pilares no tratamento de pacientes com diabetes consiste no manejo nutricional, visando propiciar melhor controle glicêmico e prevenir o desenvolvimento de complicações decorrentes, reduzindo assim a morbimortalidade e promovendo a qualidade de vida. Ao abordar o papel dos edulcorantes no controle do diabetes, estes podem figurar como importante recurso, sobretudo no controle e substituição da ingestão de açúcares simples para almejar as metas glicêmicas (LIVESEY, 2003; ISA, 2018; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2021).

Barriocanal et al. (2008) realizaram um estudo clínico randomizado controlado e duplo-cego com grupos de indivíduos com DM tipo 1, com DM 2 e indivíduos sem diabetes e normopressóricos. Indivíduos em cada grupo foram aleatorizados para receber placebo ou 250 mg/dia de esteviosídeo durante três meses. O tratamento não apresentou efeito colateral, nem efeito farmacológico sobre a pressão arterial sistólica e diastólica, bem como sobre a glicemia e a hemoglobina glicada.

A avaliação a curto prazo os efeitos do rebaudiosídeo A e do eritritol foi realizada em adultos com intolerância à glicose, no qual os participantes (n = 25) foram orientados a manterem a alimentação habitual e a consumirem duas vezes ao dia, sachês contendo cada um 16 mg de rebaudiosídeo A e 986 mg de eritritol, durante um período de 2 semanas. Ao final da intervenção, apesar da tendência de declínio no nível de frutossamina, glicemia e insulinemia em jejum e peptídeo C, as diferenças não foram estatisticamente significativas e o consumo de rebaudiosídeo A e eritritol não afetou a homeostase da glicose em indivíduos com pré-diabétes (SHIN et al., 2016).

Um estudo clínico randomizado controlado por placebo em indivíduos com diabetes tipo 2 (n = 162), avaliou-se os efeitos do consumo de 1.000 mg de rebaudiosídeo A. Não foram encontradas diferenças entre os grupos quanto à glicemia de jejum, insulinemia e dosagem de peptídeo C, assim como para a pressão arterial e peso corporal durante 16 semanas de intervenção. A ingestão de rebaudiosídeo A não mostrou associação à maior ocorrência de episódios de hipoglicemia e os resultados sugerem que o seu uso crônico não altera a homeostase da glicose ou da pressão arterial em pessoas com diabetes (MAKI et al., 2008a).

Há evidências preliminares sugerem que o benefício dos glicosídeos de esteviol no tratamento do diabetes possa ir além de sua capacidade de conferir sabor doce. Experimentos indicaram que os glicosídeos de esteviol podem promover aumento da captação de glicose por meio da modulação da translocação do transportador de glicose (GLUT) para a membrana celular, pela via PI3K/Akt (FERRI et al., 2006). Mais estudos são necessários para confirmar este achado. Com relação a associação dos extratos de esteviol e metabolismo da glicose, os dados mostram uma leve diminuição significativa nos níveis de glicose no sangue de indivíduos saudáveis (CURI et al., 1986), hipertensos (FERRI et al., 2006), obesos (ANTON et al., 2010) e diabéticos não insulino dependentes (RITU & NANDINI, 2016). Um dos mecanismos explanatórios acerca da possível ação sobre a redução da

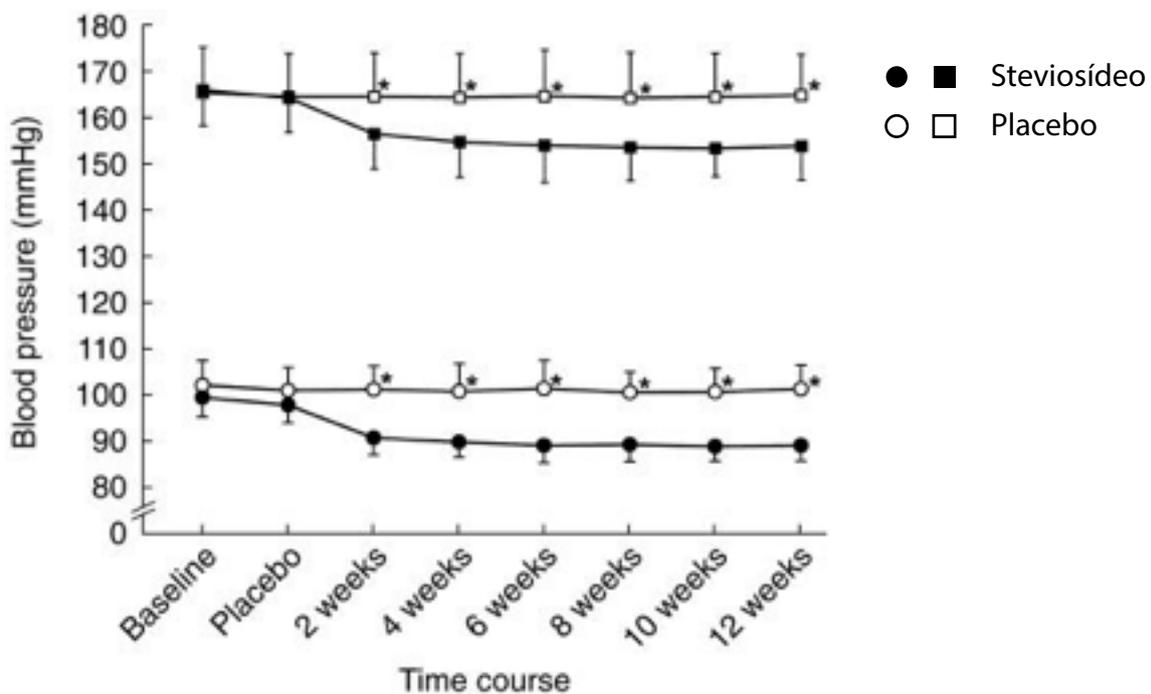


glicose decorre do efeito direto dos esteviosídeos sobre a célula beta pancreática para secretar mais insulina e melhorar a glicotoxicidade. O efeito hipoglicêmico também pode ocorrer devido uma maior resposta da primeira fase de secreção da insulina e supressão de glucagon (RITU & NANDINI, 2016).

Considerando que o estado de hiperglicemia pode contribuir para a disfunção endotelial, Schiano et al. (2020) conduziram estudo in vitro que avaliou células endoteliais humanas tratadas com glicose, frutose, rebaudiosídeo A, esteviosídeo e esteviol. Foram analisadas características morfológicas, angiogênese in vitro e expressão de genes considerados biomarcadores de risco de doença cardiovascular. Apesar de não haver diferenças na expressão gênica entre os compostos, observou-se que altas concentrações de glicose e frutose tiveram impactado negativo, diminuindo a capacidade angiogênica, enquanto os glicosídeos de esteviol não causaram danos as células endoteliais e não comprometeram a angiogênese (SCHIANO et al., 2020).

Em estudo multicêntrico, randomizado, controlado e duplo-cego, indivíduos hipertensos (n = 106) receberam cápsulas contendo 250 mg de esteviosídeo, três vezes ao dia, ou placebo. Após 3 meses, não houve diferenças em relação a parâmetros bioquímicos, como perfil glicêmico e lipídico, porém a pressão arterial sistólica e diastólica do grupo que recebeu o esteviosídeo foi significativamente menor em comparação ao placebo (pressão arterial sistólica de $152,6 \pm 6,8$ vs. $166,0 \pm 9,4$ mmHg; diastólica de $90,3 \pm 3,6$ vs. $104,7 \pm 5,2$ mmHg), e o efeito persistiu ao longo de 1 ano de acompanhamento, conforme ilustrado na Figura 10 (CHAN et al., 2000).

Figura 10 Médias de pressão arterial sistólica e diastólica do grupo intervenção e placebo ao início e final do estudo.



Os glicosídeos de esteviol foram investigados em indivíduos com hipertensão leve que foram randomizados para receber cápsulas contendo placebo ou esteviosídeo em doses crescentes de até 15,0 mg/kg p.c./ dia. Ao longo de 24 semanas, o esteviosídeo não promoveu alterações na pressão arterial ou efeito clínico adverso, demonstrando segurança e tolerabilidade (FERRI et al., 2006).

Os polióis apresentam valores de muito baixo índice glicêmico (IG) e, o eritritol, possui valor 0 (zero). A Tabela 2 apresenta os valores de IG de demais polióis (LIVESEY, 2003; REGNAT et al., 2018):

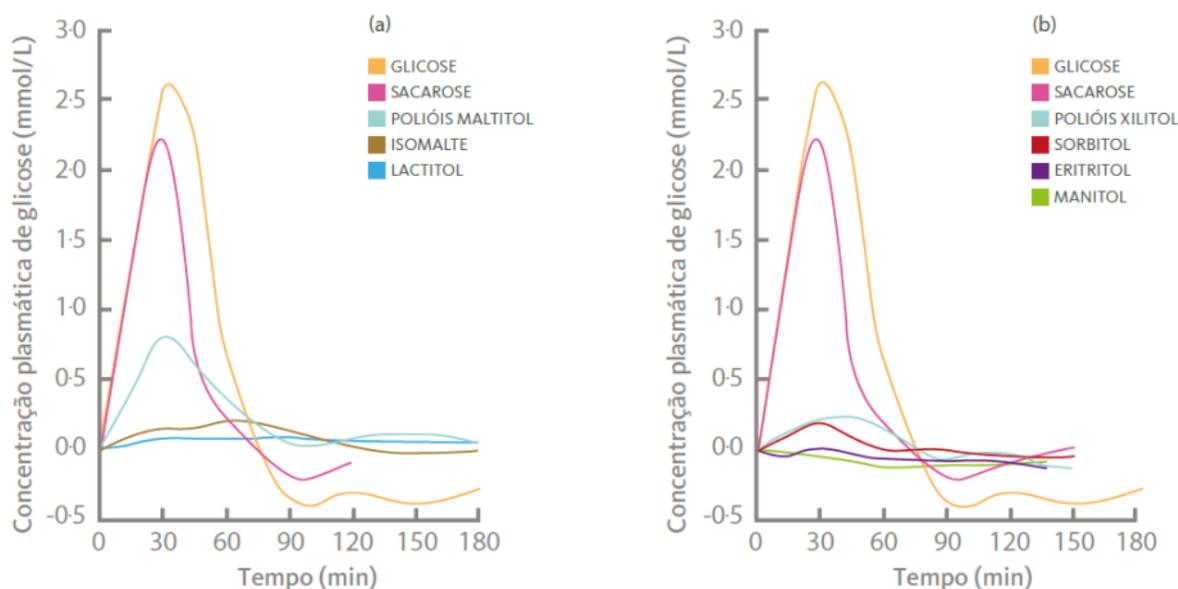
Tabela 2. Índice glicêmico de diferentes polióis em comparação à sacarose (LIVESEY, 2003).

	Fórmula química	Índice glicêmico (IG)
Sacarose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	65,0
Eritritol	$C_4H_{10}O_4$	0,0
Lactitol	$C_{12}H_{24}O_{11}$	6,0
Manitol	$C_6H_{14}O_6$	0,0
Maltitol	$C_{12}H_{24}O_{11}$	35,0
Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	9,0
Xilitol	$C_5H_{12}O_5$	13,0



As respostas glicêmicas à administração de glicose, sacarose, além dos polióis, eritritol, maltitol, isomalte, lactitol, xilitol, sorbitol e manitol é ilustrada na Figura 11. As curvas representam a ingestão de 25 g do composto de estudo (20 - 64 g para eritritol) misturado à água ou chá sem adição de leite ou outros nutrientes (80 a 500 mL) por indivíduos saudáveis. O pico da resposta glicêmica foi observado 30 a 60 minutos após a administração de glicose e sacarose, ao passo que as respostas de todos os polióis avaliados se mostraram inferiores às da glicose e sacarose (LIVESEY, 2003).

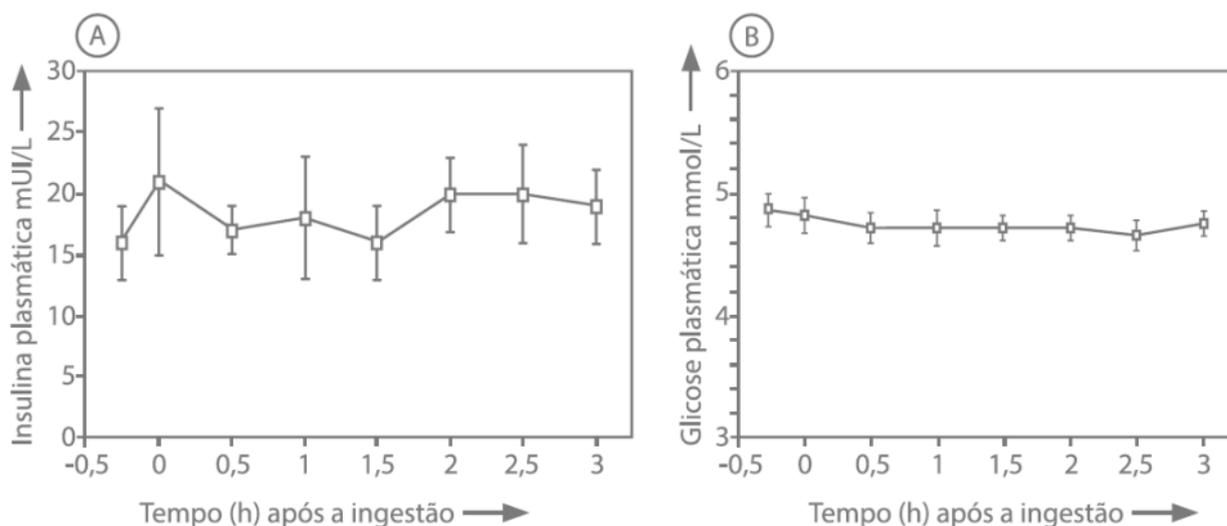
Figura 11. Curvas glicêmicas para a glicose, sacarose e polióis em indivíduos saudáveis.



Legenda: Curvas glicêmicas para (a) glicose, sacarose, maltitol, isomalte, lactitol e (b) glicose, sacarose, xilitol, sorbitol, eritritol e manitol em indivíduos saudáveis. Dados agrupados de publicações para produzir curvas representativas de 25 g de dose (20 - 64 g para eritritol) em água ou chá sem outros nutrientes. Na prática, estudos individuais usaram várias doses e a dose foi usada como uma covariável em cada ponto de tempo para obter curvas representando 25 g de ingestão.

Os efeitos agudos do eritritol sobre os níveis de glicose e insulina em homens saudáveis foram estudados por meio da administração oral de 0,3 g/kg p.c./dia do polioli em comparação à mesma dose de glicose, utilizada como controle. Observou-se que o eritritol não gerou aumento na glicemia e insulinemia, além de não influenciar parâmetros como perfil lipídico e níveis de eletrólitos (NODA et al., 1994). A medição da resposta glicêmica e insulinêmica após a ingestão de 1,0 g/kg p.c. de eritritol em indivíduos saudáveis é ilustrada na Figura 12 (SCHIWECK et al., 2012).

Figura 12. Resposta glicêmica e insulinêmica após ingestão oral de dose única de eritritol (1,0 g/kg p.c.) por adultos saudáveis (n = 6).

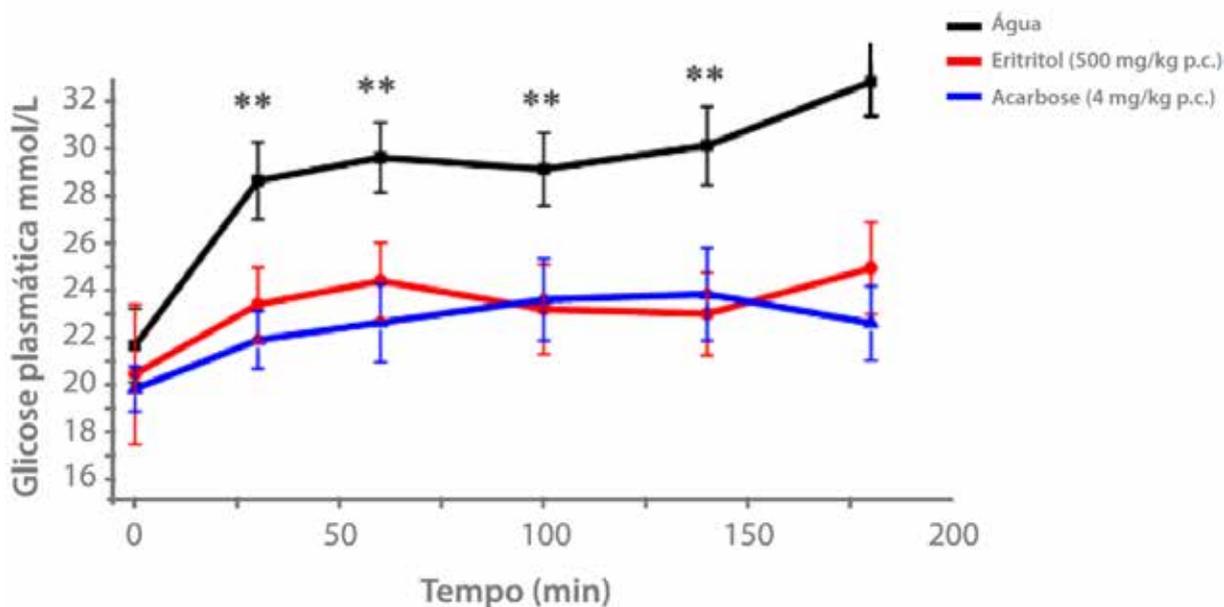


Legenda: (A) resposta insulinêmica; (B) resposta glicêmica

A investigação dos efeitos agudos da administração oral de dose única de 20 g de eritritol em indivíduos com diabetes, não provocou alterações no nível de glicose e de insulina pós-prandial. Adicionalmente, foram exibidas reduções nos níveis séricos da glicemia e hemoglobina glicada ao longo do período durante 14 dias. Os autores concluem que a administração cotidiana de eritritol pode integrar a dieta de indivíduos diabéticos de forma segura (ISHIKAWA et al., 1996). HOOTMAN et al. (2017), semelhantemente, observaram que ingestão de 50 g de eritritol também não influenciou a glicemia em jovens adultos saudáveis.

Em modelo animal, o efeito do eritritol foi investigado em comparação com o efeito hipoglicemiante da acarbose sobre os níveis da glicemia pós-prandiais após administração intragástrica de amido em camundongos com diabetes. Foi observado um declínio na glicemia pós-prandial para os grupos tratados com eritritol e acarbose, demonstrando que ambos exerceram um efeito hipoglicêmico, conforme apresentado na Figura 13. Os autores investigaram por ensaios de atividade enzimática e de modelagem molecular que o eritritol atuou como inibidor competitivo da enzima alfa-glicosidase, sugerindo que o poliol tenha o potencial de influenciar benéficamente o controle glicêmico (WEN et al., 2018).

Figura 13. Níveis de glicemia após administração intragástrica de eritritol e acarbose em comparação ao placebo (água) a camundongos diabéticos.



Os efeitos do eritritol na função vascular foi estudado em 24 indivíduos com DM2, mediante o consumo de 36 g/dia de eritritol durante 4 semanas e, dose única de 24 g no momento inicial e final. Observou-se melhora da função endotelial pela medida da tonometria arterial periférica após 2 horas do consumo de eritritol. Cronicamente, após 4 semanas, houve redução da pressão de pulso central, rigidez arterial e da velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral, parâmetros associados ao risco cardiovascular (FLINT et al., 2014).

Em estudo que investigou os efeitos da administração oral de eritritol em doses de 0,1, 0,2 ou 0,4 g/kg p.c./dia por 10 dias a ratos com diabetes, reduziu os níveis de glicose sérica, hepática e renal de forma dose-dependente. Na dose mais elevada, o eritritol reduziu os níveis de colesterol total e o nível sérico de hidroximetilfurfural, utilizado para determinar a extensão da glicosilação de proteínas séricas e, conseqüentemente, do estresse oxidativo no organismo. A partir dos achados, sugere-se que o eritritol poderia influenciar positivamente o metabolismo da glicose, do perfil lipídico e dos danos causados pelo estresse oxidativo envolvidos na patogênese do diabetes (YOKOZAWA et al., 2002).

O eritritol foi investigado quanto à atividade antioxidante e efeito vasoprotetor em grupo ratos com e sem diabetes que receberam 1,0 g/kg p.c./dia do polioliol ou somente água durante 21 dias. Foram determinadas as atividades antioxidantes e da função endotelial pela medição da resposta de relaxamento de anéis aórticos isolados após estímulos de contração. Foi examinado que o eritritol apresentou atividade de eliminação de radicais hidroxila, enquanto se mostrou inerte aos radicais superóxidos. Adicionalmente, a administração do eritritol a ratos com diabetes apresentaram melhor resposta endotelial



pelo relaxamento nos segmentos aórticos. No estudo, o eritritol demonstrou capacidade de atuar como um antioxidante in vivo, exibindo efeito protetor ao endotélio, mecanismo que poderia ser adjuvante na proteção contra os danos vasculares induzidos pela hiperglicemia (DEN HARTOG et al., 2010).

Em ensaio in vitro com células endoteliais humanas, o eritritol demonstrou promover a função endotelial de artérias, reduzindo a pressão de pulso central e a rigidez da aorta central, apresentando efeito protetor vascular sob condições hiperglicêmicas, atribuível provavelmente às suas ações antioxidantes (BOESTEN et al., 2013).

vCHUKWUMA et al. (2018) conduziram experimento com ratos Sprague–Dawley e em ensaio ex vivo, para avaliar o efeito do eritritol na absorção e captação de glicose, respectivamente, pelo jejuno e músculo psoas – localizado na região do quadril – que foram incubados em solução do poliol em concentrações crescentes entre 2,5 a 20%. Observou-se que eritritol gerou um aumento de forma dose-dependente na captação de glicose pelo músculo psoas. Em outra etapa do estudo, examinou-se in vivo o efeito do consumo de glicose ou glicose associada a eritritol (1,0 g/kg p.c.) ou acarbose na absorção intestinal de glicose, esvaziamento gástrico e glicemia pós-prandial em ratos com e sem diabetes. Tanto o eritritol quanto a acarbose reduziram a absorção de glicose no intestino delgado, lentificaram o esvaziamento gástrico, impedindo um pico glicêmico nos animais diabéticos. Adicionalmente, o eritritol melhorou significativamente a tolerância à glicose nos ratos com diabetes, especialmente aos 30 e 60 minutos pós-prandiais, além de aumentar acentuadamente as atividades das enzimas glicolíticas - hexoquinase muscular e glucoquinase hepática – geralmente reduzidas na condição de diabetes, enquanto reduziu a atividade da enzima glicose-6-fosfatase, envolvida na gliconeogênese. Demonstrou-se que o tratamento com eritritol aumentou a expressão do RNAm do transportador de glicose muscular tipo 4 (GLUT-4) e do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) em animais diabéticos, achado que é de especial interesse, considerando que a expressão reduzida está associada ao diabetes e a resistência à insulina. Ressalta-se que, embora haja limitação de trabalhos publicados sobre o tema, abrem-se perspectivas de futuros estudos acerca dos possíveis efeitos da ingestão do eritritol na melhora da tolerância à glicose e efeitos anti-hiperglicêmicos no diabetes.

Influência sobre o peso corporal

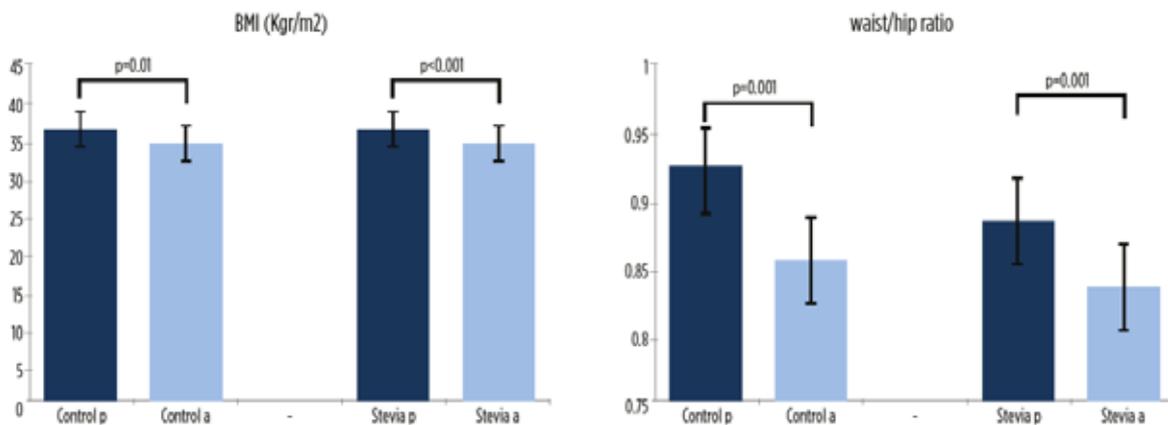
Frente à prevalência crescente de sobrepeso e obesidade globalmente, os edulcorantes, quando inseridos como parte estruturada de uma dieta balanceada e um conjunto de mudanças de estilo de vida, podem ser adjuvantes no melhor gerenciamento do balanço energético diário, figurando como um recurso benéfico visando favorecer a redução sustentável do excesso de peso (ROGERS et al., 2016; ISA, 2018).



Em estudos clínicos randomizados que avaliaram o uso de stevia e alteração de peso, não se observaram mudanças de peso corporal entre os grupos de intervenção e controle peso (HSIEH et al., 2003; MAKI et al., 2008b; KASSI et al., 2016). Hsieh et al. (2003), realizaram um estudo multicêntrico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo em homens e mulheres chineses com idade entre 20 e 75 anos com hipertensão essencial leve (pressão arterial sistólica de 140 - 159 mmHg e diastólica de 90 - 99 mmHg). Os pacientes tomaram cápsulas contendo 500 mg de esteviosídeo em pó ou placebo, 3 vezes ao dia, durante 2 anos. Não houve mudanças significativas no índice de massa corporal (IMC) entre o grupo tratado com esteviosídeo ou placebo (HSIEH et al., 2003).

Outro trabalho selecionou 40 pacientes (idade média de 47,3 anos) com síndrome metabólica (critérios NCEP/ATPIII) que foram distribuídos aleatoriamente para consumir dieta de baixa caloria, uma contendo lanche com stevia quatro vezes por semana (grupo Stevia) ou então um doce de sua escolha uma vez por semana (grupo controle). Após o período de intervenção de 4 meses, ambos os grupos apresentaram redução no IMC, no entanto, os pacientes no grupo Stevia apresentaram menor relação cintura-quadril, conforme ilustram a Figura 14 (KASSI et al., 2016):

Figura 14. Efeito da Stevia rebaudiana em pacientes com síndrome metabólica (n = 40).



Em estudo clínico randomizado duplo-cego, avaliou-se os efeitos hemodinâmicos do consumo durante quatro semanas de 1.000 mg/dia de rebaudiosídeo A vs. placebo em 100 indivíduos com pressão arterial normal e/ou baixa. As alterações no peso corporal, além dos parâmetros pressóricos em repouso e monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) não diferiram significativamente entre os grupos do rebaudiosídeo A e placebo pré a pós-intervenção (MAKI et al., 2008b).

Considerando que o consumo de bebidas açucaradas figura como fator de risco para a esteatohepatite não alcoólica (NASH), Xi et al., (2020) realizaram estudo envolvendo a administração de rebaudiosídeo A ou sucralose em comparação à frutose e sacarose em água potável a camundongos com obesidade induzida por dieta rica em gordura e grupo controle. Os edulcorantes não influenciaram o ganho de peso nas 15 semanas do estudo.





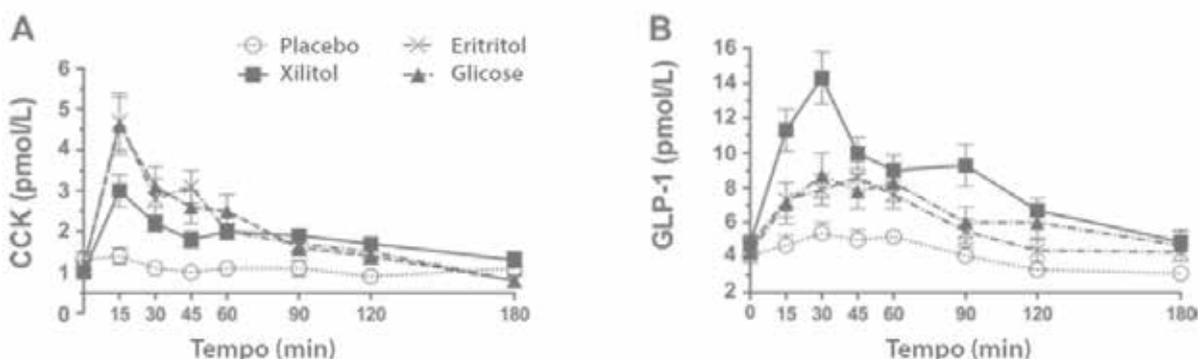
O rebaudiosídeo A melhorou significativamente as enzimas hepáticas, a fibrose hepática, melhorou a sensibilidade à insulina e o perfil de expressões de genes relacionados ao estresse do retículo endoplasmático—relacionado à homeostase da glicose—além dos níveis de glicose em jejum, sugerindo que a substituição de frutose e sacarose por rebaudiosídeo A como adoçante potencialmente proporciona hepatoproteção, melhorando a NASH (XI et al., 2020). A capacidade hepatoprotetora do rebaudiosídeo A foi observada em cultura de células de carcinoma hepatocelular humano (HepG2) possivelmente atribuída à ação desse glicosídeo de esteviol sobre o mecanismo de induzir a expressão do fator nuclear eritroide 2—relacionado ao fator 2 (Nrf2), reduzindo a resposta inflamatória mediada por NF- κ B e o estresse oxidativo hepático. e, portanto, evita a necrose, colestase e preservação da estrutura e função do parênquima hepático (WANG et al., 2018a).

A administração a ratos Sprague-Dawley com obesidade de dieta normo ou hiperlipídica, ambas contendo 5% de eritritol, durante 8 semanas não influenciou a variação de peso ou gordura visceral, assim como alterações no perfil lipídico quando comparados ao grupo controle (CHUNG et al., 2012).

Higgins et al. (2019) avaliaram por meio de estudo clínico randomizado, o efeito de bebida contendo rebaudiosídeo A e outros adoçantes de baixa caloria em adultos (n = 123) com sobrepeso ou obesidade. Ao final da intervenção de 12 semanas, enquanto a ingestão de sacarose, utilizada como controle e, a bebida contendo sacarina induziram ao aumento de peso nos participantes estatisticamente significativo, o consumo de bebida contendo rebaudiosídeo A, sucralose ou aspartame não provocou mudança de peso corporal (HIGGINS et al., 2019).

Em ensaio clínico cross-over, duplo-cego e controlado por placebo, 10 adultos eutróficos e 10 com obesidade foram randomizados e receberam 50 g de xilitol, 75 g de eritritol, 75 g de glicose ou água via sonda nasogástrica. Ambos os polióis levaram ao aumento acentuado no peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) e na colecistoquinina (CCK), bem como no retardo do esvaziamento gástrico. Os níveis de insulina e de glicose plasmática apresentaram discreta elevação pela administração de xilitol, enquanto não sofreram alterações com o eritritol. As respostas observadas após a administração de eritritol, xilitol, glicose e placebo sobre os níveis de CCK, de GLP-1, são apresentadas na Figura 15. Não foi observada diferença estatisticamente significativa em escalas subjetivas de fome entre os grupos, entretanto, ressalta-se que o esvaziamento gástrico mais lento tende a favorecer a sensação de saciedade (WÖLNERHANSEN et al., 2016). Os pesquisadores ressaltam que os efeitos observados no estudo decorreram da administração de doses únicas relativamente elevadas dos polióis, sendo necessária a investigação dos efeitos de doses mais baixas e fracionadas ao longo do dia, mais compatíveis com o consumo cotidiano.

Figura 15. Concentrações plasmáticas de (A) CCK, (B) GLP-1, (C) glicose e (D) insulina após a administração de 50 g de xilitol, 75 g de eritritol, 75 g de glicose ou placebo (água) via sonda nasogástrica em adultos eutróficos e com obesidade (n = 20).



Microbiota intestinal

A utilização de glicosídeos de esteviol pela microbiota intestinal sugere que eles podem ter potencial efeito prebiótico. Muito embora mais estudos devam ser realizados para melhor entendimento de potencial ação prebiótica, um ensaio *in vitro*, com oito cepas de bifidobactérias e sete cepas de lactobacilos foram testadas quanto à sua capacidade de crescimento na presença de rebaudiosídeo A e glicosídeos de esteviol da *Stevia rebaudiana* Bertoni. Com base na avaliação da densidade bacteriana e dos valores de pH, verificou-se que os lactobacilos e as bifidobactérias testadas foram capazes de utilizar os glicosídeos de esteviol como fonte de carbono. Todas as cepas testadas apresentaram mudança significativamente menor na absorvância e diminuição do pH do meio de crescimento em comparação com os controles positivos (meio contendo glicose como fonte de carbono ou meio de cultura seletivo específico) (KUNOVÁ et al., 2014).

Em estudo de Wang et al. (2018b), investigou-se o efeito de adoçantes não calóricos na microbiota intestinal de camundongos *in vivo* e sobre cepas de *Escherichia coli* *in vitro*. Embora o rebaudiosídeo A não influenciou a microbiota intestinal dos camundongos, os resultados mostraram que no ensaio *in vitro*, o rebaudiosídeo A apresentou atividade bacteriostática para o crescimento de espécies de *Escherichia coli*. Os autores postulam, a partir das observações de que o rebaudiosídeo A *in vitro*, mas não nos camundongos, exerceu efeito bacteriostático possivelmente por meio da inibição de enzimas metabólicas ou pela alteração do transporte de nutrientes essenciais para o crescimento bacteriano.

O ensaio *in vitro* realizado por Gardana et al. (2003) que explorou a hidrólise de glicosídeos de esteviol amostras fecais homogeneizadas de adultos, demonstrou-se que os compostos não influenciaram significativamente a composição da microbiota intestinal humana, porém o esteviosídeo inibiu as bactérias anaeróbias, enquanto o rebaudiosídeo A, por sua vez, inibiu fracamente as bactérias aeróbias, em particular os coliformes. Apesar da ampla variabilidade interindividual observada na microbiota subdominante (que corresponde a menos de 1% da microbiota humana total) entre os voluntários do estudo, os pesquisadores



observaram que apenas Bacteroides foram capazes de hidrolisar os glicosídeos de esteviol testados.

O efeito do rebaudiosídeo A e aspartame foi explorado em modelo animal de ratas Sprague-Dawley e sua prole. No experimento, todas as ratas foram alocadas durante a gravidez e lactação para receber dieta obesogênica rica em gordura e sacarose, adicionadas de rebaudiosídeo A (2 - 3 mg/kg p.c./dia), aspartame (5 - 7 mg/kg p.c./dia) ou controle, que não recebeu edulcorante. A prole das ratas foi desmamada com dieta controle e água, sem adição de quaisquer edulcorantes. Em seguida, o transplante de matéria fecal da prole foi realizado a ratos estéreis e livres de germes. Observou-se que os animais que receberam o transplante apresentaram maior peso, gordura corporal (sem alteração de massa magra) e tolerância à glicose prejudicada. Adicionalmente, nas mães que receberam o rebaudiosídeo A, houve aumento de bactérias do gênero *Sporobacter* e, especialmente, aumento da família *Porphyromonadaceae* - associada ao maior risco para o desenvolvimento de NASH e alterações no metabolismo da glicose. Verificou-se que as alterações metabólicas dos animais livres de germes que receberam transplante de matéria fecal ocorreram mesmo que a prole não tenha consumido diretamente os edulcorantes e que tenham sido decorrentes das alterações no microbioma da mãe e sua influência sobre a prole (NETTLETON et al., 2020).

Em estudo semelhante, os autores examinaram o efeito da exposição ao rebaudiosídeo A (2 - 3 mg/kg p.c./dia) com ou sem a co-administração de prebiótico (inulina e oligofrutose) para comparação com grupo controle (água) em ratos Sprague-Dawley jovens recém desmamados. Ao final da intervenção, o consumo de prebiótico com ou sem rebaudiosídeo A em comparação foi associada à redução da ingestão alimentar, massa gorda e menor permeabilidade intestinal. A influência do rebaudiosídeo A isolado sobre a ingestão de alimentos, não influenciou o ganho de peso e sensibilidade à insulina, porém foi descrita alteração na composição da microbiota intestinal – com aumento da abundância relativa de *Akkermansia muciniphila*, a qual se atribui a maior redução de massa gorda e melhora da permeabilidade intestinal observada nesses animais. Embora os pesquisadores não tenham observado esses efeitos, os animais que receberam o rebaudiosídeo A apresentaram menor expressão de genes do *nucleus accumbens*, região que desempenha um papel fundamental na busca de alimento e que predispõe à ingestão aumentada e maior risco de obesidade, (NETTLETON et al., 2019).

O mecanismo pelo qual os glicosídeos de esteviol podem influenciar a microbiota intestinal permanecem pouco compreendidos e, considerando os resultados mistos nesse campo, como apresentado na revisão de Lobach et al. (2019), diante das evidências atualmente disponíveis não é possível afirmar a influência dessas substâncias a desfechos de saúde clinicamente relevantes em humanos. Ademais, a interpretação e extrapolação de alguns achados exige cautela, tendo em vista a existência de discrepâncias entre o microbioma de modelos animais de laboratório e em humanos, bem como da variabilidade interindividual e as influências derivadas da composição da dieta (JOHNSON et al., 2018) e, nesse sentido, futuros estudos devem endereçar e levar em consideração tais fatores de confusão ao investigar o impacto da exposição dos diferentes edulcorantes sobre a microbiota intestinal.



Estudos em modelos animais e humanos demonstram que os polióis apresentam grande variabilidade na fração capaz de ser absorvida pelo intestino delgado e que, conseqüentemente, ao chegar no cólon sofre fermentação pela microbiota intestinal ou como resultado de efeitos osmóticos, gera sintomas gastrointestinais como distensão abdominal, cólicas, fezes amolecidas e diarreia. Cabe mencionar que a manifestação e a intensidade dos sintomas variam, dentre outros fatores, de acordo com a dose, velocidade de ingestão, consumo concomitante ou não com outros alimentos, estado líquido ou sólido, suscetibilidade individual. O tamanho molecular do poliol também consiste num fator fundamental que interfere na absorção no intestino delgado. Comparativamente, estima-se que o sorbitol apresente peso molecular de 182 g/mol - próximo ao limite superior de difusão no epitélio do intestino delgado - resultando em absorção inferior ao xilitol, de peso molecular 152 g/mol e ao eritritol, de 122 g/mol. Assim, justifica-se pelo baixo peso molecular do eritritol, a sua rápida absorção no intestino delgado, menor efeito osmótico, menor manifestação de distúrbios gastrointestinais e produção limitada de gases em comparação a outros polióis (ZUMBÉ et al., 2001; STOREY et al., 2006).

Arrigoni et al. (2005) realizou in vitro a incubação de eritritol em lotes de amostras fecais humana num período de 24 horas. Os padrões de fermentação foram estabelecidos por meio da análise da produção total de gás, acúmulo de hidrogênio, modificações no pH, produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e degradação do substrato. Levando em consideração todos os parâmetros de fermentação, os autores verificaram que o eritritol mostrou-se completamente resistente à ação bacteriana em comparação ao maltitol, lactulose e controle num período de 24 horas.

Em paralelo, Mahalak et al. (2020) avaliaram o efeito do eritritol in vitro no crescimento bacteriano, utilizando cepas da microbiota intestinal humana (*Escherichia coli*, *Enterococcus caccae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Ruminococcus gauvreauii*, *Bacteroides galacturonicus* e *Bacteroides thetaiotaomicron*). Ao longo do período de 24 horas, não foram observadas alterações no crescimento das cepas em resposta às concentrações de 25, 50 e 100 µg/mL de eritritol adicionadas às culturas bacterianas. Embora os resultados indiquem que o poliol não apresentou impacto mensurável na estrutura da microbiota intestinal in vitro, os autores descrevem que eritritol foi capaz de influenciar a função da microbiota, visto que no estudo, foi quantificado o conteúdo de AGCC, sendo que os ácidos butírico e pentanóico aumentaram significativamente após a adição de eritritol. Esses resultados são de interesse considerando que AGCC, principalmente o ácido butírico, estão associados a desfechos positivos à saúde, como efeito protetor para a obesidade e doenças inflamatórias intestinais. No mesmo estudo, os pesquisadores avaliaram em amostras fecais de macaco-prego (*Cebus apella*), o efeito do consumo de edulcorante contendo eritritol associado a glicosídeos de esteviol pelo animal). Por meio de análise de amostras fecais do animal, verificou-se a influência positiva do blend de edulcorantes no microbioma, observada pela diversidade alfa e beta (relacionadas à variedade de espécies distintas e a abundância relativa de espécies). O estudo não encontrou impacto negativo provocado pelos edulcorantes na comunidade microbiana intestinal, entretanto, mais pesquisas são necessárias objetivando melhor compreensão desses efeitos específicos.

Glândula Tireoide



Os efeitos dos princípios ativos de *Stevia rebaudiana* sobre parâmetros tireoidianos de ratos machos foram estudados e os resultados mostraram que o grupo tratado com stevia não diferiu significativamente do grupo controle os parâmetros dos hormônios tireoidianos (OLIVEIRA-FILHO et al., 1989). Quanto ao eritritol, não são descritas na literatura relações acerca do poliol e sua influência sobre a função tireoidiana.

Termos com eritritol e relacionados à glândula tireóide, não foram encontrados até a presente data em publicações indexadas ao Pubmed/Scielo.

Alergenicidade

Algumas plantas da família Asteraceae, a que pertence a *Stevia*, podem induzir reações de hipersensibilidade por meio do contato com a pele, inalação e ingestão, entre elas crisântemo, girassol, equinácea, camomila e chicória. Devido à taxonomia comum, há questionamento quanto ao possível potencial alergênico da estevia. Apresenta-se escassa a literatura científica disponível sobre a questão da alergenidade de glicosídeos de esteviol ou extratos de folhas de estevia em humanos ou animais. Dois relatos de caso na literatura indicaram a ocorrência de reações alérgicas supostamente relacionadas à ingestão de estevia. No entanto, estes datam de antes de 2008, quando extratos de glicosídeos de alta pureza foram introduzidos no mercado e, assim os extratos brutos de *Stevia rebaudiana* comercializados anteriormente apresentariam maior suscetibilidade de apresentar substâncias alergênicas comuns à família Asteraceae ou outras substâncias. Desde então, segundo revisão de Urban et al. (2015), não houve novos relatos conclusivos na literatura ou em estudos de vigilância realizados pela indústria de alimentos.

Sendo assim, há pouca evidência científica substanciada para justificar que os consumidores sejam alertados sobre a possibilidade de alergia aos extratos de glicosídeos de esteviol de alta pureza ($\geq 95\%$) aprovados pelas agências regulatórias, como o FDA. A possibilidade de reação cruzada entre alérgenos de plantas da família Asteraceae e adoçantes à base de estevia é baixa com base nas informações disponíveis atualmente, mas não pode ser completamente excluída sem que mais estudos clínicos sejam realizados (URBAN et al., 2015).

SHIRAO et al. (2013) publicaram relato de caso em criança de 11 anos que apresentou quadro de anafilaxia ao ingerir alimento contendo eritritol. Os autores realizaram uma investigação detalhada e confirmaram a anafilaxia induzida pelo eritritol por teste cutâneo (prick test), teste de provocação oral (TPO) pelo método duplo-cego controlado com placebo - considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de alergia alimentar - e teste de ativação de basófilos (BAT) (SHIRAO et al., 2013).



Outro relato de caso de reação de hipersensibilidade ao eritritol com manifestação de urticária, foi reportado em mulher de 24 anos de idade. Os sintomas da reação cutânea se manifestaram em todo o corpo, ocorrendo após a ingestão de bebida pronta feita a partir de chá verde, leite e que continha eritritol. Posteriormente, a alergia induzida pelo eritritol foi confirmada na paciente após teste de contato (patch test), teste cutâneo e TPO (HINO et al., 2000). Adicionalmente, foi reportado em homem de 50 anos, três episódios de urticária generalizada - dois dos quais acompanhados de hipotensão - após o consumo de alimentos que continham eritritol em situações diferentes, o que foi confirmado após teste cutâneo intradérmico ao polioliol (YUNGINGER et al., 2001). Muito embora reações de hipersensibilidade causadas por aditivos alimentares sejam descritas na literatura, deve-se considerar que são de ocorrência rara na população geral os casos decorrentes da ingestão de alimentos e bebidas contendo o eritritol.

Prevenção de cáries

Estima-se que as cáries afetem cerca de 2,3 bilhões de pessoas mundialmente, sendo que mais de 530 milhões de crianças apresentem cáries de dentes decíduos, acometendo cerca de 60 a 90% das crianças em idade escolar (PETERSEN, 2013; Global Burden of Disease Study, 2018). Aspectos relacionados ao hospedeiro, como a interação entre a microbiota da cavidade oral e uma alimentação rica em carboidratos fermentáveis consistem em fatores proeminentes para o desenvolvimento de cáries. Nesse sentido, a utilização de edulcorantes, como a stevia e o eritritol, podem ser um recurso útil beneficiando assim a saúde oral, visando a prevenção e controle das cáries em associação a medidas de higiene bucal (MÄKINEN et al., 2005; HONKALA et al., 2014).

Diferentemente da sacarose, tanto o esteviosídeo e rebaudiosídeo A não induziram à formação de cáries em estudo em ratos Sprague-Dawley (DAS et al., 1992). Em adição, um potencial efeito protetor contra cáries foi sugerido por Chavarria et al. (2008), devido à diminuição na ingestão de carboidratos fermentáveis e à possível ação antibacteriana.

O efeito de glicosídeos de esteviol na formação de biofilme de *Streptococcus mutans* - bactéria associada ao desenvolvimento de cáries - foi investigado em ensaio in vitro e sobre o pH da placa in vivo. Enquanto a sacarose levou à formação de biofilme e produziu um pH significativamente menor, os glicosídeos de esteviol não afetaram o pH da placa, indicando que estes compostos não promovem o metabolismo acidogênico em bactérias da boca, reiterando seu uso como edulcorante não-cariogênico (BRAMBILLA et al., 2014).

Similarmente, Escobar et al. (2020) avaliaram o crescimento total de *Streptococcus mutans* e formação de biofilme em ensaio in vitro. Muito embora, durante o período de 72 horas, não houve erradicação de *Streptococcus mutans*, observou-se um crescimento reduzido e a menor formação de biofilme mediante a administração de glicosídeos de esteviol em comparação ao controle com sacarose.

O eritritol tem sido investigado quanto ao efeito anticariogênico, atuando por meio da redução na formação da placa bacteriana, com diminuição da contagem de *Streptococcus mutans*,



além da neutralização dos ácidos produzidos pela placa, evitando assim a desmineralização do esmalte dental (DE COCK, 2018). A análise dos efeitos de polióis em culturas de bactérias da placa dental, demonstrou a capacidade deste poliol na inibição da formação de biofilme composto por outras bactérias associadas a doenças periodontais como *Streptococcus gordonii* e a supressão moderada de *Porphyromonas gingivalis* (HASHINO et al., 2013).

Num estudo clínico, adolescentes (n = 136) receberam pastilhas compostas exclusivamente por eritritol, xilitol ou sorbitol, além de creme dental contendo 34,5% do poliol correspondente na composição, somando uma exposição de cerca de 7,0 g diárias ao poliol. Foi demonstrada aos 3 meses e ao final da intervenção de 6 meses, uma redução no peso da placa dentária, bem como a redução nos níveis de *Streptococcus mutans* na placa e na saliva dos grupos que usaram eritritol ou xilitol em comparação ao grupo que recebeu sorbitol e ao grupo controle que somente manteve a continuidade dos hábitos alimentares e de higiene bucal (MÄKINEN et al., 2005).

Em trabalho que explorou os efeitos do eritritol e do xilitol sobre a dinâmica na formação *in vitro* de biofilme por *Streptococcus mutans*, através de monitoramento em tempo real, encontrou que ambos os polióis induziram à menor de formação de biofilme, especialmente nos estágios iniciais, impactando a quantidade total de biofilme formado. Os autores sugerem que os polióis atuem não somente na diminuição no número de células viáveis de *Streptococcus mutans*, mas influenciem também a quantidade de polissacarídeos na composição da matriz do biofilme e a rigidez de sua fixação na superfície da matriz (LOIMARANTA et al., 2020).

Em paralelo, o impacto do eritritol e do xilitol no crescimento e formação de biofilme de bactérias cariogênicas foi investigado em estudo *in vitro* realizado por Kõljalg et al. (2020). O polióis, quando aplicados de forma isolada em diferentes concentrações variando entre 15%, 7,5%, 3,75%, 1,9% e 0,9%, foram capazes de impedir o crescimento de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Scardovi wiggisiae*, apresentando nas maiores concentrações, inibição superior a 40%, reduzindo significativamente a formação de biofilme de *Streptococcus mutans* e de *Streptococcus sobrinus*. Observou-se a atuação sinérgica dos polióis e, sobretudo a combinação com maior proporção de eritritol (7,5% de eritritol e 2,5% de xilitol), atuou de forma mais ativa na inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* (KÕLJALG et al., 2020).

Cannon et al. (2020), semelhantemente, investigaram *in vitro*, o efeito combinado do eritritol e xilitol no crescimento de cepas de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* em superfície de plástico de poliestireno e, muito embora não foi verificado nenhum efeito bactericida em qualquer concentração de polióis, todas as cepas tiveram crescimento reduzido por ambos os polióis de uma forma dose dependente.



População pediátrica

A proporção de crianças e adolescentes de 5 a 19 anos com sobrepeso e a obesidade passou de 1 em 10 para quase 1 em 5 entre 2000 e 2016 (UNICEF, 2019). No Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes (ERICA), a contribuição de açúcares livres sobre a energia total da alimentação excedeu às recomendações em 25% das meninas e 22% dos meninos brasileiros (SOUZA et al., 2016). O consumo excessivo desses açúcares está intimamente associado ao risco de ganho de peso e de desenvolvimento de DCNTs que podem incidir mais precocemente em crianças e adolescentes e, nesse sentido, em quadros clínicos de intolerância à glicose e diabetes, preconiza-se o uso de adoçantes para melhor gerenciamento da ingestão de carboidratos em crianças objetivando o controle glicêmico (SBP, 2019).

A abordagem nutricional no tratamento da obesidade, de forma individualizada deve encorajar as crianças e os familiares a contemplar uma dieta balanceada, assegurando a distribuição adequada de macro e micronutrientes e, nesse contexto, a substituição de açúcares livres por alternativas de edulcorantes como os glicosídeos de esteviol e o eritritol podem auxiliar na redução da densidade energética da alimentação, privilegiando-se a ingestão de alimentos e bebidas mais densas do ponto de vista nutricional, contribuindo para a melhora geral da qualidade da dieta (FITCH et al., 2012; AGÜERO et al., 2018). Sugere-se que o consumo de bebidas não açucaradas possam ser adjuvantes no controle de escore Z de IMC em crianças e adolescentes e que o consumo de edulcorantes em substituição aos açúcares livres pode contribuir para a maior adesão à dieta (WILLIAMS et al., 2007; DE RUYTER et al., 2012).

O consumo de adoçantes em crianças tem sido extensamente avaliado por agências reguladoras. Comparativamente a adultos, as crianças apresentam tendência de maior ingestão de edulcorantes proporcionalmente à sua massa corporal pelo cálculo de consumo por meio de mg/kg p.c./dia (REHWICK, 2006; WHITEHOUSE et al., 2008). Contudo, considerando as estimativas de consumo de glicosídeos de esteviol mesmo de crianças com diabetes – estrato populacional que apresenta propensão à maior ingestão relativa de edulcorantes – não se observa risco de ser excedida a IDA (REHWICK, 2008; EFSA, 2010; FDA, 2019).

Muito embora, as publicações disponíveis na literatura acerca dos efeitos à saúde dos glicosídeos de esteviol em humanos são explorados majoritariamente em adultos, considerando o metabolismo *in vitro* dos rebaudiosídeos A e M sem diferenciação entre crianças e adultos descritos por PURKAYASTHA et al. (2020), pressupõe-se a partir dos achados a segurança de consumo desses glicosídeos de esteviol pela população pediátrica.

Em estudo duplo-cego do tipo cross-over, avaliou-se a tolerância gastrointestinal de crianças (n = 128) entre 4 a 6 anos que foram randomizadas em grupos de ingestão de dose única de diferentes doses de eritritol (5, 15, 20 e 25 g) e placebo, composto por sacarose e maltodextrina. Foram examinados sintomas gastrointestinais, como dor abdominal, flatulência, ruído causado pela presença de gases e náusea, além do padrão de fezes por meio da Escala de Bristol. Nas doses mais elevadas de eritritol, foi verificada maior incidência



de diarreia e outros sintomas gastrointestinais em comparação ao controle, indicando que a ingestão do eritritol de até 15 g em dose única (correspondente à 0,71 g/kg p.c.) em crianças de 4 a 6 anos não apresentou efeitos adversos (JACQZ-AIGRAIN et al., 2015).

Acompanhou-se a saúde oral de 485 crianças com idade entre 7 e 8 anos em ensaio clínico duplo-cego, as quais foram randomizadas em grupos que consumiram diariamente pastilhas contendo eritritol, xilitol ou grupo controle com sorbitol, totalizando ingestão diária de cerca de 7,5 g do poliol. Ao longo do acompanhamento de três anos, o número e o tempo de progressão de lesões de cárie em dentina foi menor no grupo que consumiu eritritol em comparação aos demais (HONKALA et al., 2014). Em diferente publicação, as crianças que consumiram pastilhas contendo eritritol apresentaram crescimento reduzido da placa dental, níveis mais baixos de ácido acético e propiônico e, contagens orais reduzidas de *Streptococcus mutans* especialmente em comparação ao consumo de pastilhas contendo sorbitol (RUNNEL et al., 2013).

Apesar da limitação do escopo de pesquisas a respeito dos efeitos do eritritol em crianças e adolescentes, a observação de estudos conduzidos em crianças com idade a partir de 4 anos por JACQZ- AIGRAIN et al. (2015) e de exposição crônica ao poliol em crianças de 7 a 8 anos por HONKALA et al. (2014) fornece evidências que corroboram quanto à segurança da ingestão do eritritol. Considerando os achados disponíveis sobre a tolerância ao eritritol, sugere-se que a idade não seja uma variável de influência na sensibilidade a este poliol e crianças parecem metabolizar e tolerar sua ingestão de forma similar a adultos com base no peso corporal (EFSA, 2015).



Conclusão

Ressalta-se a importância na continuidade e ampliação de estudos direcionados para examinar o espectro de efeitos dos diferentes edulcorantes à saúde. Entretanto, a análise da literatura disponível corrobora com a segurança de utilização dos rebaudiosídeos A e M e eritritol como parte da alimentação pela população de forma geral e a grupos populacionais específicos, como indivíduos com diabetes, crianças e gestantes.

Complementarmente, os glicosídeos de esteviol e o eritritol proporcionam um perfil sensorial agradável semelhante à sacarose e ambos exibem atributos como baixo índice glicêmico sendo um potencial adjuvante na prevenção e no tratamento do diabetes. Adicionalmente, eles possuem valor calórico nulo, constituindo-se de um recurso importante, em associação a mudanças de estilo de vida para o gerenciamento de peso, além de serem não-cariogênicos, promovendo a saúde oral.

Por final, diante dos dados epidemiológicos acerca da prevalência da obesidade e DCNTs associadas, do consumo excessivo de açúcares livres provenientes de alimentos e bebidas e, considerando a demanda dos consumidores por opções seguras, de origem natural e palatáveis como substitutos desses açúcares, o uso sinérgico dos rebaudiosídeos A e M e o eritritol figuram como uma alternativa de escolha dentro do contexto de uma alimentação equilibrada e prazerosa.



Referências bibliográficas



1. World Health Organization. Global Health Estimates 2016: disease burden by cause, age, sex, by country and by region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018.
2. World Obesity Federation (WOF). Obesity: missing the 2025 global targets, Trends, Costs and Country Reports, 2020. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. *Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.*
3. Louzada MLC, Martins AP, Canella DS, Baraldi LG, Levy RB, Claro RM, Moubarac JC, Cannon G, Monteiro CA. Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2015;49: 38.
4. World Health Organization. Guideline: Sugars Intake for Adults and Children. Geneva: World Health Organization; 2015. International Sweeteners Association (ISA). Low Calorie Sweeteners: Role and Benefits A guide to the science of low calorie sweeteners. ISA booklet - 4^o Edition: 2018.
5. Saraiva A, Carrascosa C, Raheem D, Ramos F, Raposo A. Natural Sweeteners: The Relevance of Food Naturalness for Consumers, Food Security Aspects, Sustainability and Health Impacts. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Aug 28;17(17):6285.
6. Fitch C, Keim KS; Academy of Nutrition and Dietetics. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Acad Nutr Diet* 2012; 112(5): 739-58.
7. Kennelly, E. A. Sweet and non-sweet constituents of Stevia rebaiana. Douglas Kinghorn. *Stevia: The genus Stevia.* CRC Press, 2002.
8. Goto A, Clemente E. Influência do rebaudiosídeo A na solubilidade e no sabor do esteviosídeo. *Ciênc Tecnol Aliment* 1998; 18(1): 3-6.
9. Koyama E, Kitazawa K, Otori Y, Izawa O, Kakegawa K, Fujino A, Ue M. In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food Chem Toxicol* 2003; 41(3): 359-74.
10. Goyal SK, Samsher, Goyal RK. Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr.* 2010 Feb;61(1):1-10.
11. Lemus-Mondaca 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 Chemistry* 2012; 1121-1132.
12. Prakash I, Markosyan A, Bunders C. Development of Next Generation Stevia Sweetener: Rebaudioside M. *Foods.* 2014 Feb 27;3(1):162-175.
13. Tao R, Cho S. Consumer-Based Sensory Characterization of Steviol Glycosides (Rebaudioside A, D, and M). *Foods.* 2020 Jul 31;9(8):1026.
14. Zumbé A, Lee A, Storey D. Polyols in confectionery: the route to sugar-free, reduced sugar and reduced calorie confectionery. *Br J Nutr.* 2001 Mar;85 Suppl 1:S31-45.
15. Shankar P, Ahuja S, Sriram K. Non-nutritive sweeteners: review and update. *Nutrition.* 2013 Nov-Dec;29(11-12):1293-9. Boesten DMPHJ, den Hartog GJM, de Cock P, Bosscher D, Bonnema A, Bast A. Health effects of erythritol. *Nutrafoods.* 2015 Feb;14(1):3-9.
16. Shiweck H, Bär A, Vogel R, Kunz M, Dusautois C, Clement A et al. Sugar Alcohols, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; 15 Jan 2012. p. 1-37.

- 
17. Grembecka M. Sugar alcohols—their role in the modern world of sweeteners: a review. *European Food Research and Technology*. 2015 Feb;241:1-14.
 18. Regnat K, Mach RL, Mach-Aigner AR. Erythritol as sweetener-wherefrom and whereto? *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018 Jan;102(2):587-595.
 19. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 48, de 05 de novembro de 2010. Dispõe sobre o fator de conversão para o cálculo do valor energético do eritritol.
 20. Purkayastha S, Kwok D. Metabolic fate in adult and pediatric population of steviol glycosides produced from stevia leaf extract by different production technologies. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020 Oct;116:104727.
 21. Geuns JM, Buysse J, Vankeirsbilck A, Temme EH. Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007; 232(1): 164-73.
 22. Purkayastha S, Markosyan A, Prakash I, Bhusari S, Pugh G Jr, Lynch B, Roberts A. Steviol glycosides in purified stevia leaf extract sharing the same metabolic fate. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016 Jun;77:125-33.
 23. European Food Safety Authority (EFSA). Panel on Food Additives and Flavourings (FAF), Younes M, Aquilina G, Engel KH, Fowler P, Frutos Fernandez MJ, Fürst P, Gürtler R, Gundert-Remy U, Husøy T, Manco M, Mennes W, Moldeus P, Passamonti S, Shah R, Waalkens-Berendsen I, Wölfle D, Wright M, Degen G, Giarola A, Rincon AM, Castle L. Safety of a proposed amendment of the specifications for steviol glycosides (E 960) as a food additive: to expand the list of steviol glycosides to all those identified in the leaves of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *EFSA J*. 2020 Apr 29;18(4):e06106.
 23. Purkayastha S, Bhusari S, Pugh G Jr, Teng X, Kwok D, Tarka SM. In vitro metabolism of rebaudioside E under anaerobic conditions: Comparison with rebaudioside A. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2015 Aug;72(3):646-57.
 24. Gardana C, Simonetti P, Canzi E, Zanchi R, Pietta P. Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *J Agric Food Chem*. 2003 Oct 22;51(22):6618-22.
 25. Roberts A, Lynch B, Rogerson R, Renwick A, Kern H, Coffee M, Cuellar-Kingston N, Eapen A, Crincoli C, Pugh G Jr, Bhusari S, Purkayastha S, Carakostas M. Chemical-specific adjustment factors (inter-species toxicokinetics) to establish the ADI for steviol glycosides. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016 Aug;79:91-102.
 26. Wheeler A, Boileau AC, Winkler PC, Compton JC, Prakash I, Jiang X, Mandarino DA. Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 Suppl 7: S54-60.
 27. Renwick AG. The use of a sweetener substitution method to predict dietary exposures for the intense sweetener rebaudioside A. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 Suppl 7: S61-9.
 28. Bernt WO, Borzelleca JF, Flamm G, Munro IC. Erythritol: a review of biological and toxicological studies. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S191-7.
 29. Moon HJ, Jeya M, Kim IW, Lee JK. Biotechnological production of erythritol and its applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010 Apr;86(4):1017-25.
 30. Mihooliya KN, Nandal J, Verma H, Sahoo DK. Erythritol: A Sugar Substitute. In: *High Value Fermentation Products* (eds. Saran S, Babu V, Chuabey A). 2019. v.1, p. 265-284.
 31. Tetzloff W, Dauchy F, Medimagh S, Carr D, Bär A. Tolerance to subchronic, high-dose ingestion of erythritol in human volunteers. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S286-95.
 32. Storey D, Lee A, Bornet F, Brouns F. Gastrointestinal tolerance of erythritol and xylitol ingested in a liquid. *Eur J Clin Nutr*. 2007 Mar;61(3):349-54.
 33. Food and Drug Administration (FDA). 2018. GRAS Notice No. (GRN) 745. GRAS notice for Steviol glycosides consisting primarily of rebaudioside M, PureCircle Ltd., Oak Brook, IL. U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN), Office of Food Additive Safety.
 34. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 2010; 8(4): 1537.
 35. Foods Standards Australia New Zealand (FSANZ). 2015. A1108 – Rebaudioside M as a Steviol Glycoside Intense Sweetener. (Application to Change Food Standards Code). Canberra, Australia / Wellington, NZ: Foods Standards Australia New Zealand (FSANZ).



36. Health Canada. 2012. Information and Consultation Document on Health Canada's Proposal to Allow the Use of the Food Additive Steviol Glycosides as a Table-Top Sweetener and as a Sweetener in Certain Food Categories. Ottawa (ON): Health Canada, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate.
37. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA). 2017. Compendium of Food Additive Specifications. In: The 84th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, Italy, p. 106.
38. United States Department of Agriculture/ The Agricultural Research Service (USDA/ARS). 2016. Nutrient intakes from food and beverages: mean amounts consumed per individual, by gender and age. In: What We Eat in America, NHANES 2013-2014. Riverdale (MD): U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA/ARS).
39. Food and Drug Administration (FDA). 2019. GRAS Notice No. (GRN) 882. GRAS notice for rebaudioside M. U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN), Office of Food Additive Safety.
40. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada - 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.
41. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series, No. 44, 2000.
42. Curry LL, Roberts A. Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 Suppl 7: S11-20.
Nikiforov AI, Eapen AK. A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside A in Sprague-Dawley rats. *Int J Toxicol* 2008; 27(1): 65-80.
43. Toskulkao C, Chaturat L, Temcharoen P, Glinsukon T. Acute toxicity of stevioside, a natural sweetener, and its metabolite, steviol, in several animal species. *Drug Chem Toxicol* 1997; 20(1-2): 31-44.
44. Munro IC, Berndt WO, Borzelleca JF, Flamm G, Lynch BS, Kennepohl E, Bär EA, Modderman J. Erythritol: an interpretive summary of biochemical, metabolic, toxicological and clinical data. *Food Chem Toxicol*. 1998 Dec;36(12):1139-74.
45. European Food Safety Authority (EFSA). Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. Scientific opinion on the safety of the proposed extension of use of erythritol (E 968) as a food additive. *EFSA J*. 2015;13(3):4033.
46. Til HP, Modderman J. Four-week oral toxicity study with erythritol in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S214-20.
47. Dean I, Jackson F, Greenough RJ. Chronic (1-year) oral toxicity study of erythritol in dogs. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S254-60.
48. Eapen AK, de Cock P, Crincoli CM, Means C, Wismer T, Pappas C. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of erythritol in Beagle dogs. *Food Chem Toxicol*. 2017 Jul;105:448-455. Erratum in: *Food Chem Toxicol*. 2017 Dec;110:443.
49. Brusick DJ. A critical review of the genetic toxicity of steviol and steviol glycosides. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 Suppl 7: S83-91.
50. Urban JD, Carakostas MC, Brusick DJ. Steviol glycoside safety: is the genotoxicity database sufficient? *Food Chem Toxicol*. 2013 Jan;51:386-90. doi: 10.1016/j.fct.2012.10.016. Epub 2012 Oct 26.
51. Uçar A, Yılmaz S, Yılmaz Ş, Kılıç MS. A research on the genotoxicity of stevia in human lymphocytes. *Drug Chem Toxicol*. 2018 Apr;41(2):221-224.
52. Rumelhard M, Hosako H, Eurlings IM, Westerink WM, Staska LM, van de Wiel JA, La Marta J. Safety evaluation of rebaudioside A produced by fermentation. *Food Chem Toxicol*. 2016 Mar;89:73-84.
53. Xili L, Chengjiany B, Eryi X, Reiming S, Yuengming W, Haodong S, Zhiyian H. Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of stevioside in rats. *Food Chem Toxicol* 1992; 30(11): 957-65.
54. Toyoda K, Matsui H, Shoda T, Uneyama C, Takada K, Takahashi M. Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food Chem Toxicol* 1997; 35(6): 597-603.
55. Chung YS, Lee M. Genotoxicity assessment of erythritol by using short-term assay. *Toxicol Res*. 2013 Dec 31;29(4):249-55.
56. Lina BA, Bos-Kuijpers MH, Til HP, Bär A. Chronic toxicity and carcinogenicity study of erythritol in rats. *Regul Toxicol*



Pharmacol. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S264-79.

57. Usami M, Sakemi K, Kawashima K, Tsuda M, Ohno Y. Teratogenicity study of stevioside in rats. *Eisei Shikenjo Hokoku*. 1995;(113):31-5.
58. Yodyingyuad V, Bunyawong S. Effect of stevioside on growth and reproduction. *Hum Reprod* 1991; 6(1): 158-65.
- Curry LL, Roberts A, Brown N. Rebaudioside A: two-generation reproductive toxicity study in rats. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 Suppl 7: S21-30.
59. Smits-van Prooije AE, Waalkens-Berendsen DH, Bär A. Embryotoxicity and teratogenicity study with erythritol in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S232-6.
60. Waalkens-Berendsen DH, Smits-van Prooije AE, Wijnands MV, Bär A. Two-generation reproduction study of erythritol in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S237-46.
61. Shimizu M, Katoh M, Imamura M, Modderman J. Teratology study of erythritol in rabbits. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1996 Oct;24(2 Pt 2):S247-53.
62. Brusati V, Józwik M, Józwik M, Teng C, Paolini C, Marconi AM, Battaglia FC. Fetal and maternal non-glucose carbohydrates and polyols concentrations in normal human pregnancies at term. *Pediatr Res*. 2005 Oct;58(4):700-4.
63. Hootman KC, Trezzi JP, Kraemer L, Burwell LS, Dong X, Guertin KA, Jaeger C, Stover PJ, Hiller K, Cassano PA. Erythritol is a pentose-phosphate pathway metabolite and associated with adiposity gain in young adults. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017 May 23;114(21):E4233-E4240.
64. Pope E, Koren G, Bozzo P. Sugar substitutes during pregnancy. *Can Fam Physician*. 2014 Nov;60(11):1003-5.
65. Barbier T, Machelart A, Zúñiga-Ripa A, Plovier H, Hougardy C, Lobet E, Willemart K, Muraille E, De Bolle X, Van Schaftingen E, Moriyón I, Letesson JJ. Erythritol availability in bovine, murine and human models highlights a potential role for the host aldose reductase during *Brucella* Infection. *Front Microbiol*. 2017 Jun 13;8:1088.
66. Brown LD, Thorn SR, Cheung A, Lavezzi JR, Battaglia FC, Rozance PJ. Changes in fetal mannose and other carbohydrates induced by a maternal insulin infusion in pregnant sheep. *J Anim Sci Biotechnol*. 2014 May 22;5(1):28.
67. Cavalli C, Teng C, Battaglia FC, Bevilacqua G. Free sugar and sugar alcohol concentrations in human breast milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006 Feb;42(2):215-21
68. Brown LD, Cavalli C, Harwood JE, Casadei A, Teng CC, Traggiai C, Serra G, Bevilacqua G, Battaglia FC. Plasma concentrations of carbohydrates and sugar alcohols in term newborns after milk feeding. *Pediatr Res*. 2008 Aug;64(2):189-93.
69. Howlett A, Ohlsson A, Plakkal N. Inositol in preterm infants at risk for or having respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jul 8;7(7):CD000366.
70. Groenen PM, Peer PG, Wevers RA, Swinkels DW, Franke B, Mariman EC, Steegers-Theunissen RP. Maternal myo-inositol, glucose, and zinc status is associated with the risk of offspring with spina bifida. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Dec;189(6):1713-9.
71. Livesey G. Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutr Res Rev*. 2003 Dec;16(2):163-91.
72. American Diabetes Association. 5. Facilitating Behavior Change and Well-being to Improve Health Outcomes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021 Jan;44(Suppl 1):S53-S72.
73. Barriocanal LA, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez JT, Jimenez N, Rojas V. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in Type 1 and Type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008 Jun;51(1):37-41.
74. Shin DH, Lee JH, Kang MS, Kim TH, Jeong SJ, Kim CH, Kim SS, Kim IJ. Glycemic effects of rebaudioside a and erythritol in people with glucose intolerance. *Diabetes Metab J*. 2016 Aug;40(4):283-9.
75. Maki KC, Curry LL, Carakostas MC, Tarka SM, Reeves MS, Farmer MV, McKenney JM, Toth PD, Schwartz SL, Lubin BC, Dicklin MR, Boileau AC, Bisognano JD. The hemodynamic effects of rebaudioside A in healthy adults with normal and low-normal blood pressure. *Food Chem Toxicol*. 2008a. Jul;46 Suppl 7:S40-6.



76. Ferri LAF, Alves-Do-Prado W, Yamada SS, Gazola S, Batista MR, Bazotte RB. Investigation of the antihypertensive effect of oral crude stevioside in patients with mild essential hypertension. *Phytother Res.* 2006;20(9):732–736.
77. Anton SD, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geiselman P, Williamson DA. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite.* 2010 Aug;55(1):37-43.
78. Ritu M, Nandini J. Nutritional composition of *Stevia rebaudiana*, a sweet herb, and its hypoglycaemic and hypolipidaemic effect on patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Sci Food Agric.* 2016 Sep;96(12):4231-4.
79. Schiano C, Grimaldi V, Franzese M, Fiorito C, De Nigris F, Donatelli F, Soricelli A, Salvatore M, Napoli C. Non-nutritional sweeteners effects on endothelial vascular function. *Toxicol in vitro.* 2020 Feb;62:104694.
80. Chan P, Tomlinson B, Chen YJ, Liu JC, Hsieh MH, Cheng JT. A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *Br J Clin Pharmacol.* 2000 Sep;50(3):215-20.
81. Noda K, Nakayama K, Oku T. Serum glucose and insulin levels and erythritol balance after oral administration of erythritol in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr.* 1994 Apr;48(4):286-92.
82. Ishikawa M, Miyashita M, Kawashima Y, Nakamura T, Saitou N, Modderman J. Effects of oral administration of erythritol on patients with diabetes. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1996 Oct;24(2 Pt 2):S303-8.
83. Wen H, Tang B, Stewart AJ, Tao Y, Shao Y, Cui Y, Yue H, Pei J, Liu Z, Mei L, Yu R, Jiang L. Erythritol attenuates postprandial blood glucose by inhibiting α -Glucosidase. *J Agric Food Chem.* 2018 Feb 14;66(6):1401-1407.
84. Flint N, Hamburg NM, Holbrook M, Dorsey PG, LeLeiko RM, Berger A, de Cock P, Bosscher D, Vita JA. Effects of erythritol on endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus: a pilot study. *Acta Diabetol.* 2014;51(3):513-6.
85. Yokozawa T, Kim HY, Cho EJ. Erythritol attenuates the diabetic oxidative stress through modulating glucose metabolism and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Agric Food Chem.* 2002 Sep 11;50(19):5485-9.
86. den Hartog GJ, Boots AW, Adam-Perrot A, Brouns F, Verkooijen IW, Weseler AR, Haenen GR, Bast A. Erythritol is a sweet antioxidant. *Nutrition.* 2010 Apr;26(4):449-58.
87. Boesten DM, Berger A, de Cock P, Dong H, Hammock BD, den Hartog GJ, Bast A. Multi-targeted mechanisms underlying the endothelial protective effects of the diabetic-safe sweetener erythritol. *PLoS One.* 2013 Jun 5;8(6):e65741.
88. Chukwuma CI, Mopuri R, Nagiah S, Chuturgoon AA, Islam MS. Erythritol reduces small intestinal glucose absorption, increases muscle glucose uptake, improves glucose metabolic enzymes activities and increases expression of Glut-4 and IRS-1 in type 2 diabetic rats. *Eur J Nutr.* 2018 Oct;57(7):2431-2444.
89. Rogers PJ, Hogenkamp PS, de Graaf C, Higgs S, Lluch A, Ness AR, Penfold C, Perry R, Putz P, Yeomans MR, Mela DJ. Does low-energy sweetener consumption affect energy intake and body weight? A systematic review, including meta-analyses, of the evidence from human and animal studies. *Int J Obes (Lond).* 2016 Mar;40(3):381-94.
90. Hsieh MH, Chan P, Sue YM, Liu JC, Liang TH, Huang TY, Tomlinson B, Chow MS, Kao PF, Chen YJ. Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: a two-year, randomized, placebo-controlled study. *Clin Ther.* 2003 Nov;25(11):2797-808.
91. Kassi ENLG, Pavlaki A, Lambrou G, Mantzou E, Androulakis I, Giannakou A, et al. Long-term effects of *stevia rebaudiana* on glucose and lipid profile, adipocytokines, markers of inflammation and oxidation status in patients with metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2016;37.
92. Maki KC, Curry LL, Reeves MS, Toth PD, McKenney JM, Farmer MV, et al. Chronic consumption of rebaudioside A, a steviol glycoside, in men and women with type 2 diabetes mellitus. *Food Chem Toxicol* 2008b. 46 Suppl 7: S47-53.
93. Xi D, Bhattacharjee J, Salazar-Gonzalez RM, Park S, Jang A, Warren M, Merritt R, Michail S, Bouret S, Kohli R. Rebaudioside affords hepatoprotection ameliorating sugar sweetened beverage-induced nonalcoholic steatohepatitis. *Sci Rep.* 2020 Apr 21;10(1):6689.
94. Wang Y, Li L, Wang Y, Zhu X, Jiang M, Song E, Song Y. New application of the commercial sweetener rebaudioside A as a hepatoprotective candidate: Induction of the Nrf2 signaling pathway. *Eur J Pharmacol.* 2018a. Mar 5;822:128-137.
95. Chung YM, Hyun Lee J, Youl Kim D, Hwang SH, Hong YH, Kim SB, Jin Lee S, Hye Park C. Dietary D-psicose reduced visceral fat mass in high-fat diet-induced obese rats. *J Food Sci.* 2012 Feb;77(2):H53-8.

- 
96. Higgins KA, Mattes RD. A randomized controlled trial contrasting the effects of 4 low-calorie sweeteners and sucrose on body weight in adults with overweight or obesity. *Am J Clin Nutr.* 2019 May 1;109(5):1288-1301.
- Wölnerhanssen BK, Cajacob L, Keller N, Doody A, Rehfeld JF, Drewe J, Peterli R, Beglinger C, Meyer-Gerspach AC. Gut hormone secretion, gastric emptying, and glycemic responses to erythritol and xylitol in lean and obese subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016 Jun 1;310(11):E1053-61.
97. Overduin J, Collet TH, Medic N, Henning E, Keogh JM, Forsyth F, Stephenson C, Kanning MW, Ruijschop RMAJ, Farooqi IS, van der Klaauw AA. Failure of sucrose replacement with the non-nutritive sweetener erythritol to alter GLP-1 or PYY release or test meal size in lean or obese people. *Appetite.* 2016 Dec 1;107:596-603.
98. Veedfald S, Wu T, Bound M, Grivell J, Hartmann B, Rehfeld JF, Deacon CF, Horowitz M, Holst JJ, Rayner CK. Hyperosmolar Duodenal Saline Infusion Lowers Circulating Ghrelin and Stimulates Intestinal Hormone Release in Young Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Dec 1;103(12):4409-4418.
99. Kunová G, Rada V, Vidailiac A, Lisova I. Utilisation of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) by lactobacilli and bifidobacteria in in vitro conditions. *Folia Microbiol (Praha).* 2014 May;59(3):251-5.
100. Wang QP, Browman D, Herzog H, Neely GG. Non-nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PLoS One.* 2018b. Jul 5;13(7):e0199080.
101. Nettleton JE, Cho NA, Klancic T, Nicolucci AC, Shearer J, Borgland SL, Johnston LA, Ramay HR, Noye Tuplin E, Chleilat F, Thomson C, Mayengbam S, McCoy KD, Reimer RA. Maternal low-dose aspartame and stevia consumption with an obesogenic diet alters metabolism, gut microbiota and mesolimbic reward system in rat dams and their offspring. *Gut.* 2020 Oct;69(10):1807-1817.
102. Nettleton JE, Klancic T, Schick A, Choo AC, Shearer J, Borgland SL, Chleilat F, Mayengbam S, Reimer RA. Low-Dose Stevia (Rebaudioside A) Consumption Perturbs Gut Microbiota and the Mesolimbic Dopamine Reward System. *Nutrients.* 2019 May 31;11(6):1248.
103. Lobach AR, Roberts A, Rowland IR. Assessing the in vivo data on low/no-calorie sweeteners and the gut microbiota. *Food Chem Toxicol* 2019;124:385-99.
104. Johnson RK, Lichtenstein AH, Anderson CAM, Carson JA, Després JP, Hu FB, Kris-Etherton PM, Otten JJ, Towfighi A, Wylie-Rosett J; American Heart Association Nutrition Committee of the Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Clinical Cardiology; Council on Quality of Care and Outcomes Research; and Stroke Council. Low-Calorie Sweetened Beverages and Cardiometabolic Health: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation.* 2018 Aug 28;138(9):e126-e140.
105. Arrigoni E, Brouns F, Amadò R. Human gut microbiota does not ferment erythritol. *Br J Nutr.* 2005 Nov;94(5):643-6.
- Mahalak KK, Firman J, Tomasula PM, Nuñez A, Lee JJ, Bittinger K, Rinaldi W, Liu LS. Impact of Steviol Glycosides and Erythritol on the Human and *Cebus apella* Gut Microbiome. *J Agric Food Chem.* 2020 Nov 18;68(46):13093-13101.
106. Oliveira-Filho RM, Uehara OA, Minetti CA, Valle LB. Chronic administration of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni in rats: endocrine effects. *Gen Pharmacol.* 1989;20(2):187-91.
107. Urban JD, Carakostas MC, Taylor SL. Steviol glycoside safety: are highly purified steviol glycoside sweeteners food allergens? *Food Chem Toxicol* 2015; 75: 71-8.
108. Shirao K, Inoue M, Tokuda R, Nagao M, Yamaguchi M, Okahata H, Fujisawa T. "Bitter sweet": a child case of erythritol-induced anaphylaxis. *Allergol Int.* 2013 Jun;62(2):269-71.
109. Hino H, Kasai S, Hattori N, Kenjo K. A case of allergic urticaria caused by erythritol. *J Dermatol.* 2000 Mar;27(3):163-5.
- Yunginger JW, Jones RT, Kita H, Saito K, Hefle SL, Taylor SL. Allergic reactions after ingestion of erythritol-containing foods and beverages. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Oct;108(4):650.
110. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003 Dec;31 Suppl 1:3-23.
111. Global Burden of Disease Study (GDB). Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet.* 2018 Nov 10;392(10159):1789-



1858.

112. Mäkinen KK, Saag M, Isotupa KP, Olak J, Nömmela R, Söderling E, Mäkinen PL. Similarity of the effects of erythritol and xylitol on some risk factors of dental caries. *Caries Res.* 2005 May-Jun;39(3):207-15.

113. Honkala S, Runnel R, Saag M, Olak J, Nömmela R, Russak S, Mäkinen PL, Vahlberg T, Falony G, Mäkinen K, Honkala E. Effect of erythritol and xylitol on dental caries prevention in children. *Caries Res.* 2014;48(5):482-90.

114. Das S, Das AK, Murphy RA, Punwani IC, Nasution MP, Kinghorn AD. Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Caries Res* 1992; 26(5): 363-6.

115. Chavarria N, Gamboa FO, Escribano S, Vitery R. Inhibitory activity of *Stevia rebaudiana* against *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus mutans* (abstract 107). *Caries Res* 2008; 42: 122.

116. Brambilla E, Cagetti MG, Ionescu A, Campus G, Lingström P. An in vitro and in vivo comparison of the effect of *Stevia rebaudiana* extracts on different caries-related variables: a randomized controlled trial pilot study. *Caries Res.* 2014;48(1):19-23.

117. Escobar E, Piedrahita M, Gregory RL. Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Clin Oral Investig.* 2020 Sep;24(9):3237-3242.

118. de Cock P. Erythritol Functional Roles in Oral-Systemic Health. *Adv Dent Res.* 2018 Feb;29(1):104-109.

119. Hashino E, Kuboniwa M, Alghamdi SA, Yamaguchi M, Yamamoto R, Cho H, Amano A. Erythritol alters microstructure and metabolomic profiles of biofilm composed of *Streptococcus gordonii* and *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol.* 2013 Dec;28(6):435-51.

120. Loimaranta V, Mazurel D, Deng D, Söderling E. Xylitol and erythritol inhibit real-time biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *BMC Microbiol.* 2020 Jun 29;20(1):184.

121. Kõljalg S, Smidt I, Chakrabarti A, Bosscher D, Mändar R. Exploration of singular and synergistic effect of xylitol and erythritol on causative agents of dental caries. *Sci Rep.* 2020 Apr 14;10(1):6297.

122. Cannon ML, Merchant M, Kabat W, Catherine L, White K, Unruh B, Ramones A. In Vitro Studies of Xylitol and Erythritol Inhibition of *Streptococcus Mutans* and *Streptococcus Sobrinus* Growth and Biofilm Production. *J Clin Pediatr Dent.* 2020 Sep 1;44(5):307-314.

123. UNICEF. The State of the World's Children 2019. Children, Food and Nutrition: Growing well in a changing world. UNICEF, New York; 2019.

124. Souza AM, Barufaldi LA, Abreu GA, Giannini DT, Oliveira CL, Santos MM, Leal VS, Vasconcelos FAG. ERICA: ingestão de macro e micronutrientes em adolescentes brasileiros. *Rev Saude Publica* 2016; 50(Supl. 1):5s.

1125. Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) – Departamento de Nutrologia. Obesidade na infância e adolescência – Manual de Orientação / Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento Científico de Nutrologia. 3ª. Ed. – São Paulo: SBP. 2019.

126. Agüero SD, Dávila LA, Contreras MCE, Gómez DR, Costa JA. Noncaloric Sweeteners in Children: A Controversial Theme. *Biomed Res Int.* 2018 Jan 8;2018:4806534.

127. Williams CL, Strobino BA, Brotanek J. Weight control among obese adolescents: a pilot study. *Int J Food Sci Nutr.* 2007 May;58(3):217-30.

128. de 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 Oct 11;367(15):1397-406.

129. Renwick AG. The intake of intense sweeteners - an update review. *Food Addit Contam.* 2006 Apr;23(4):327-38.

130. Whitehouse CR, Boullata J, McCauley LA. The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN J.* 2008 Jun;56(6):251-9; quiz 260-1.

131. Jacqz-Aigrain E, Kassai B, Cornu C, Cazaubiel JM, Housez B, Cazaubiel M, Prével JM, Bell M, Boileau A, de Cock P. Gastrointestinal tolerance of erythritol-containing beverage in young children: a double-blind, randomised controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2015 Jun;69(6):746-51.