

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Etude de l'activité mutagène des édulcorants

« Cas de l'Aspartame »

Présenté par :

- BOUMECHTA Oulfa Nesrine

- OUMEDDOUR Chems Edhouha

Devant le jury composé de :

Présidente : KHALLEF M.

M.C.A

Université 8 mai 1945

Examinatrice : TABET M.

M.C.B

Université 8 mai 1945

Encadreur : BENOUARETH D.E.

Pr.

Université 8 mai 1945

Juin 2025

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage d'entamer et de terminer cet humble mémoire.

Grâce à nos valeureux Chouhada et Moudjahidine des événements 8 mai 1945 et de la guerre de libération qui ont permis à l'Algérie indépendante de s'émanciper dans le savoir et le bien être des générations montantes.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre encadreur **Mr Benouareth Djamel Eddine** pour l'honneur qu'il nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'il nous a apporté, sa disponibilité, sa patience, sa rigueur, ses remarques et ses conseils avisés durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons aussi à remercier les membres du jury en occurrence, **Mme Khallef M**, pour son aide pratique, son soutien moral, ses encouragements et sa disponibilité d'avoir accepté de présider le jury.

Ainsi que **Mme Tabet M**, pour son guide, son aide durant notre pratique, ses encouragements et pour son entière disponibilité à être membre du jury et examiner notre mémoire.

On remercie aussi **Houda** la technicienne du laboratoire, pour tout ce qu'elle nous a appris des techniques de manipulation avec rigueur, patience et bonne humeur.

Pour finir nous tenons à remercier tous nos professeurs et enseignants qui nous ont beaucoup encouragé et soutenu depuis le début de notre parcours du premier cycle d'étude jusqu'à la fin de cinquième année universitaire.

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect et l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail.

À **ma mère** qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien c'est énormes sacrifices, ces précieux conseils et sa présence dans ma vie.

À **mon père**, merci pour les valeurs nobles que tu m'as transmises, ton éducation, tes sacrifices et le soutien permanent que tu me portes.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et ma gratitude. Je ne saurais jamais vous remercier suffisamment pour l'amour et conseils que vous m'apportez, que ce modeste travail soit l'exaucement de votre souhait puisse Dieu, très haut vous accorde santé, bonheur, et longue vie.

À mes frères que j'adore **Hichem, Anis**, ainsi que **Mehdi** pour leurs soutien moral et leurs précieux conseils tout au Long de mes études.

À ma chère sœur **Bochra** pour son encouragement permanent, et son support et qui a toujours été présente pour moi.

À mes nièces **Mirna** et **Roukaya** qui ont rempli ma vie de tant de bonheur et de joie.

A mes adorables cousines **Nada** et **Nihed**.

À mes très chères amies **Maya, Sadil, Sérina, Norhene, Aya**.

Mes amours que j'aime. Elles m'ont soutenu, aider et encourager depuis des années.

À ma binôme et cousine **Douha**, pour sa compréhension, sa folie et son sérieux au travail avec laquelle j'ai passé d'inoubliables moments.

Sans oublier **Ines** et **Nada** pour leur collaboration durant la préparation de notre mémoire.

À toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de mes études.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aime et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Oulfa

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce projet fin d'étude à tous ceux qui me sont chers, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À mes chers parents

Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'études longues ce mémoire est le fruit de vos efforts.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, qui m'a soutenu depuis mon premier jour d'école jusqu'à aujourd'hui. Ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être : mon cher père **Hamid**

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études. A toi dont l'amour la patience et les prières m'ont portée tout au long de ce chemin. Aucune dédicace ne serait exprimée mon respect, mon amour éternel : ma mère **Nora**

À mon seul et cher frère **Salah**, Ton soutien constant, ta présence rassurante et tes encouragements silencieux mais profonds m'ont aidée à avancer.

À moi-même « **Doudou** » Pour mes efforts silencieux, mes nuits blanches et mes moments de doute que j'ai su dépasser. Pour avoir cru en moi, même quand c'était difficile. Ce mémoire est le témoin de ma force tranquille, de ma capacité à avancer, à apprendre, et de ma volonté d'aller jusqu'au bout. Je me le dédie avec fierté et reconnaissance.

Tonton **Abdelhak** tu es parti trop tôt, mais ta présence continue de m'accompagner chaque jour. Ce mémoire, je te le dédie avec tout mon amour, ma reconnaissance et ma peine. Ton courage, tes conseils et ton amour m'ont inspirée tout au long de ce parcours. Tu restes à jamais dans mon cœur.

À mes chères **grands-mères** qui ont quitté cette vie alors qu'elles attendaient impatiemment ma réussite.

À **ma famille à tous mes oncles et mes cousines**, merci d'avoir toujours été là, dans les moments faciles comme dans les plus difficiles. Merci pour votre amour, votre patience et votre foi en moi. Ce mémoire est le reflet de tout ce que vous m'avez appris : la persévérance, le respect et l'importance de ne jamais abandonner.

À ma binôme **Oulfa**, pour ta patience, ta rigueur et ta solidarité c'est le fruit de notre engagement commun, de nos longues heures de réflexion, de nos discussions passionnées, et aussi de nos moments de doutes partagés. Et à mes collègues **Ines** et **Nada** pour votre esprit d'équipe, votre soutien et les moments précieux vécus ensemble. Entre efforts, doutes, les réussites et les éclats de rire. Ce mémoire est aussi le reflet de notre travail commun et de notre engagement collectif.

Sans oublier mes amies **Rihem, Asma, Nouna, Aya, Norhane et Nessrine** pour leur soutien moral, leur patience, votre écoute bienveillante.

Douha

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABBREVIATIONS

RESUME

Introduction	1
--------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les édulcorants

I. Les édulcorants	3
1. Historique de l'édulcorant	3
2. Définition	4
3. Classification des édulcorants	4
4. Les caractéristiques	6
5. Effets des édulcorants sur la santé	7
6. Les avantages et les inconvénients des édulcorants	7
II. L'aspartame	9
1. Définition de l'aspartame	9
2. L'étiquetage concernant l'aspartame	9
3. Découverte et mise sur le marché de l'aspartame	10
4. Structure et propriétés physico-chimiques	10
5. Utilisation de l'aspartame	11
6. Toxicité de l'aspartame	12

Chapitre II : Toxicologie génétique

1. La génotoxicité	13
2. Mutagénicité	13
3. Relation génotoxicité mutagénicité	13
4. La cancérogenèse	14
5. Les agents de la génotoxicité	14
6. Les tests de la génotoxicité	14
6.1. Les tests procaryotiques	15
6.1.1. Test d'Ames ou Mutatest	15
6.1.2. Test SOS chromotest	17

6.2. Les tests eucaryotiques.....	18
6.2.1. Test de Allium cepa	18
6.2.2. Test de comète	18
6.2.3. Test de micronoyaux	19

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes

1. Activation des souches bactériennes.....	21
1.1. La préculture de nuit	21
1.2. Le ré-isolément des souches tests	21
1.3. La conservation des souches	21
2. Vérification des caractères génétiques	22
2.1. La culture.....	22
2.2. Culture de deux heures	22
2.3. La sensibilité aux UV	22
2.4. La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au cristal violet.....	22
2.5 La réclamation de l'Histidine	23
3. Evaluation de la mutagénicité de l'aspartame	23
3.1. Les révertants spontanés.....	23
3.2. Le test de mutagénicité.....	24

Résultats et discussion

1. Vérification des caractères génétiques	25
1.1. Sensibilité aux UV	25
1.2. La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au cristal violet.....	25
1.3. Réclamation d'Histidine.....	26
2. Résultat des révertants spontanés	27
3. Résultat du test d'Ames	27
Conclusion et perspective	33

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Les édulcorants intenses chimiques (synthétiques)	6
02	Structure et propriétés physico-chimiques de l'aspartame	11
03	Principaux agents modifiant l'ADN	14
04	Différentes mutations des souches utilisées	16
05	Nombre de révertants du test d'Ames	27

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Histoire des édulcorants les plus fréquemment utilisés	3
02	Classification des édulcorants	4
03	Structure chimique des édulcorants intenses	5
04	Structure chimique de l'aspartame	10
05	Principe d'application du test d'Ames	15
06	SOS chromotest	18
07	Principe de test des comètes	19
08	Principe du test micronoyaux	20
09	Conservation des souches	21
10	Test de vérification des caractères génétiques des souches tests	23
11	Procédure du test d'Ames	24
12	Effet des UV sur les souches d'Ames (TA89-TA100)	25
13	La résistance à l'AMP	25
14	Effet du CV, DMSO et du l'AMP sur les souches d'Ames	26
15	Réclamation de l'histidine (1- sans histidine 2- avec histidine).	26
16	Résultats des révertants spontanés	27
17	Résultats des révertants de la souche TA 98 avec les trois doses	28
18	Histogramme du nombre de révertants TA 98	29
19	Résultats des révertants de la souche TA 100 avec les trois doses	30
20	Histogramme du nombre de révertants TA 100	31

Liste des abréviations

AC	Aberrations Chromosomiques
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AMP	Ampicilline
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CV	Cristal Violet
DJA	La dose journalière admissible
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EFSA	European Food and Safety Agency
FAO	Food and Agriculture Organisation
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Fluorescence In Situ Hybridation
GMA	Gélose Minimal Agar
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
LB	Milieu Luria-Bertani
MMS	Méthyle Méthane Sulfonate
MN	Micronoyaux
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
PCU	Phénylcétonurie
SCF	Scientific Committee of Food
SCGE	Single cell Gel Electrophoresis
SOS	Save Our Souls
WHO	World Health Organization
β -gal	β -galactosidase

Résumé

L'aspartame (E 951) fait partie des additifs alimentaires dont les bénéfices pour la ligne sont bien connus. Faible en calories, il possède un pouvoir sucrant environ 200 fois supérieur à celui du sucre. Et que l'on trouve généralement dans les édulcorants de table, et sa consommation augmente de jour en jour, ce qui appelle à des études plus approfondies en termes de sécurité de sa consommation, notamment à long terme.

Des recherches scientifiques ont révélé plusieurs effets néfastes de l'aspartame sur la santé, tels qu'un risque potentiel de cancer, ainsi qu'un impact défavorable sur le cerveau et le système immunitaire.

Le but de cette étude était d'évaluer le potentiel mutagène et génotoxique de l'aspartame. Appliqué à trois doses (100 mg/l, 200 mg/l, 400 mg/l) en utilisant le test d'Ames. Testé sur des souches de *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100, ont démontré que l'aspartame induit de mutations génétiques dans l'ADN bactérien, indiquant un pouvoir mutagène.

Mots clés : L'aspartame, mutagène, génotoxique, Ames.

Abstract

Aspartame (E951) is one of the food additives whose benefits for weight control are well known. Low in calories, it has a sweetening power approximately 200 times greater than that of sugar. It is commonly found in table sweeteners, and its consumption is increasing day by day, which calls for more in-depth studies regarding the safety of its use, especially in the long term.

Scientific research has revealed several harmful effects of aspartame on health, such as a potential cancer risk, as well as adverse impacts on the brain and the immune system.

The aim of this study was to evaluate the mutagenic and genotoxic potential of aspartame. It was applied at three concentrations (100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L) using the Ames test. When tested on *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100, aspartame was shown to induce genetic mutations in bacterial DNA, indicating mutagenic potential.

Keywords : Aspartame, mutagenic, genotoxic, Ames.

المخلص

يُعد الأسبارتام (E951) أحد الإضافات الغذائية المعروفة بفوائدها في التحكم في الوزن. فهو منخفض السعرات الحرارية ويملك قدرة تحلية تفوق السكر بحوالي 200 مرة. ويوجد عادة في المحليات الصناعية المخصصة للاستخدام المنزلي، ويزداد استهلاكه يوميًا بعد يوم، مما يستدعي إجراء دراسات أكثر تعمقًا بشأن سلامة استخدامه، خاصة على المدى الطويل. وقد كشفت الأبحاث العلمية عن عدة آثار ضارة للأسبارتام على الصحة، مثل احتمال تسببه في الإصابة بالسرطان، بالإضافة إلى تأثيرات سلبية على الدماغ والجهاز المناعي.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المحتملة للأسبارتام على إحداث طفرات وراثية وتأثيرات سامة على المادة الوراثية. تم استخدامه بتركيزات ثلاث (100 ملغ/لتر، 200 ملغ/لتر، 400 ملغ/لتر) باستخدام اختبار "أمس". وعند اختباره على سلالات *Salmonella typhimurium* TA98 و TA100، أظهر الأسبارتام أنه يُحدث طفرات جينية في الحمض النووي البكتيري، مما يشير إلى وجود قدرة طافرة جينية.

الكلمات المفتاحية : الأسبارتام، مطفر، سام وراثيًا، اختبار أمس.

Introduction

Au 19^{-ème} siècle, l'industrialisation de l'alimentation et les nouvelles connaissances dans divers domaines ont progressivement conduit à l'utilisation d'additifs alimentaires identifiés chimiquement, notamment pour réaliser des fonctions particulières dans l'alimentation (**Diezil R et al., 2011**).

En Algérie, la réglementation des additifs alimentaires est gérée par le ministère du commerce qui donne : la définition de l'additif alimentaire, liste d'additif autorisé, dénomination, limites maximales autorisées sous formes de décrets et d'articles publiés dans le journal officiel algérien (**N° 30 du 16 Mai 2012, Page16**).

La saveur sucrée représente une véritable source de plaisir pour la majorité des consommateurs. Elle apparaît dès la vie intra-utérine c'est inné, et se manifeste dès la naissance. Deux grands groupes de « substances au pouvoir sucrant » sont utilisés dans les denrées alimentaires : d'une part, les sucres et, d'autre part, les édulcorants.

Les édulcorants font l'objet d'une attention particulière parmi les additifs alimentaires car leur utilisation permet une forte réduction de la consommation de sucre et une diminution significative de l'apport calorique tout en maintenant la palatabilité souhaitable des aliments et des boissons non alcoolisées (**Vences-Mejia et al., 2006**). Ils permettent de diminuer notre ration calorique quotidienne et confèrent un goût sucré largement supérieur à celui du saccharose (**Wagner, 2012**).

L'aspartame (E951), édulcorant artificiel bien connu, est présent dans près de 1 400 produits alimentaires sur le marché français, et plus de 6 000 dans le monde (**Schernhammer et al., 2012 ; Open Food Facts, 2020**).

L'aspartame (ester méthylique de la L-aspartyl-L-phénylalanine) est un édulcorant de haute intensité qui est ajouté à une grande variété d'aliments, de boissons et de produits alimentaires. On le trouve le plus souvent dans les boissons à faible teneur en calories, les desserts et les édulcorants de table ajoutés au thé ou au café (**Oyama, 2002**).

Sa valeur énergétique est similaire à celle du sucre (4 kcal/g) mais son pouvoir sucrant est 200 fois supérieur (**Anses, 2015**), ce qui signifie qu'une quantité beaucoup plus faible d'aspartame est nécessaire pour obtenir un goût comparable. L'aspartame n'est pas fermenté par les bactéries de la plaque dentaire et donc est considéré comme respectueux des dents (**Abegaz et al., 2012**). Les effets bénéfiques de l'aspartame sur le rein et le cerveau ont été rapportés (**Baudrimont et al., 1997 ; Creppy et al., 1996 ; Belmadani et al., 1998**). L'aspartame prévient effectivement la génotoxicité de l'OTA (Ochratoxine A), telle que déterminée par la formation de dans les tissus animaux (**Creppy, 2000**), et la caryomégalie principalement dans les reins (**Baudrimont et al., 2001**).

Bien que beaucoup études ont été réalisées pour déterminer les effets de l'aspartame sur la santé, les résultats de son utilisation à long terme reste difficile à prévoir et son utilisation dans les produits pharmaceutiques et alimentaires reste controversé (**Serra-Majem et al., 2018**).

Le présent travail est présenté en deux parties :

La première est une étude bibliographique qui comporte deux chapitres :

- Généralités sur les édulcorants
- La toxicologie génétique

La deuxième partie se compose de deux parties :

- Les méthodes utilisées pour la réalisation du test d'Ames
- La présentation et à la discussion des résultats obtenus, suivi d'une conclusion et de la liste des références bibliographiques.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralités sur les édulcorants

I. Les édulcorants

1. Historique de l'édulcorant

La notion d'édulcorant existe depuis l'Antiquité, même si le terme n'existait pas encore (**Wagner, 2012**). Les cuisines anciennes faisaient un grand usage du miel, des fruits secs (dattes, abricots, raisons, pruneaux) ou confits, des jus (notamment de groseille ou de raisin). Comme le miel était cher, on cherchait déjà des édulcorants, on peut citer par exemple le Sapa qui est un sirop sucré de la Rome antique provenant d'un vin cuit fermenté (**Moriniaux, 2014 ; Wagner, 2012**).

Au début du XIX^{ème} siècle, la recherche en édulcorant visait à obtenir une substance aux qualités similaire au sucre, mais à moindre coût. De nos jours, cette recherche a pour but de créer des produits à teneur réduite en calorie (**Bloino, 2009**).

En France, c'est à la fin des années 80 que les édulcorants sont mis à portée de tous lorsque leur vente est autorisée en grande surface, et non plus uniquement dans les pharmacies. Enfin, en 1988, les industriels ont l'autorisation de les utiliser dans leurs produits afin de diminuer les teneurs en sucre sans pour autant impacter le goût sucré.

Dans certains pays comme le Japon ou l'Australie les édulcorants "naturels" sont très prisés. Cependant, ces pays auraient interdit l'aspartame et la saccharine est totalement faussée. Au Japon, le stevia représente 40 % du marché. En Europe, malgré les réticences de plus en plus grandes de l'opinion publique vis à vis des édulcorants comme l'aspartame, l'acésulfame et la saccharine, ils représentent une part significative du marché [1] (**Fig. 1**).

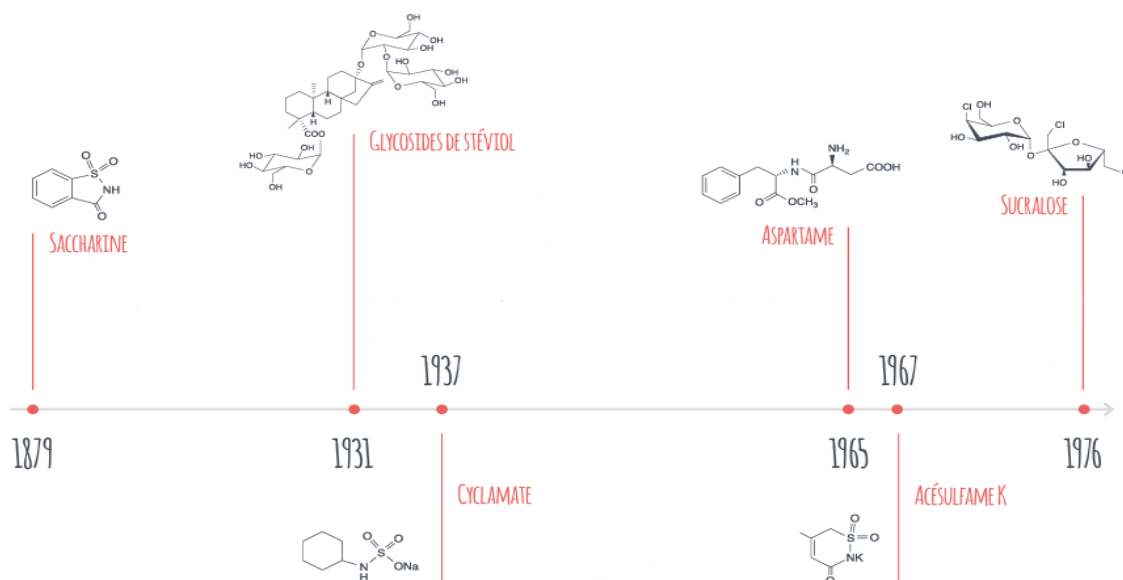


Figure 1 : Histoire des édulcorants les plus fréquemment utilisés [2].

2. Définition

Les édulcorants sont des denrées douées d'un pouvoir sucrant. Ce dernier représente la capacité d'une substance à provoquer une saveur sucrée. Il existe une échelle du pouvoir sucrant selon les différents édulcorants. Ainsi, le saccharose a été choisi comme sucre de référence et pour définir cette échelle, on estime que le saccharose a un pouvoir sucrant égal à 1 (**Fredot, 2012**).

Le mot « édulcorant » vient du latin « édulcorare », donner du doux. Les édulcorants peuvent être nutritifs ou non (**Coutin et Lignon, 2009**).

Les édulcorants sont des substances n'appartenant pas au groupe des hydrates de carbone et qui ont un pouvoir sucrant, parfois important par rapport à celui du sucre, mais qui, par rapport à leur pouvoir édulcorant, n'ont aucune valeur nutritive (ou parfois très faible). Ils sont utilisés pour communiquer une saveur sucrée aux produits alimentaires et sont utiles dans les aliments allégés ou diététique, comme pour les diabétiques (**Elatyqy, 2011**).

3. Classification des édulcorants

L'emploi d'édulcorants a connu une croissance rapide dans les années 80, suite à leur autorisation de vente en grandes surfaces (précédemment restreint aux pharmacies uniquement) [3] (Fig. 2).

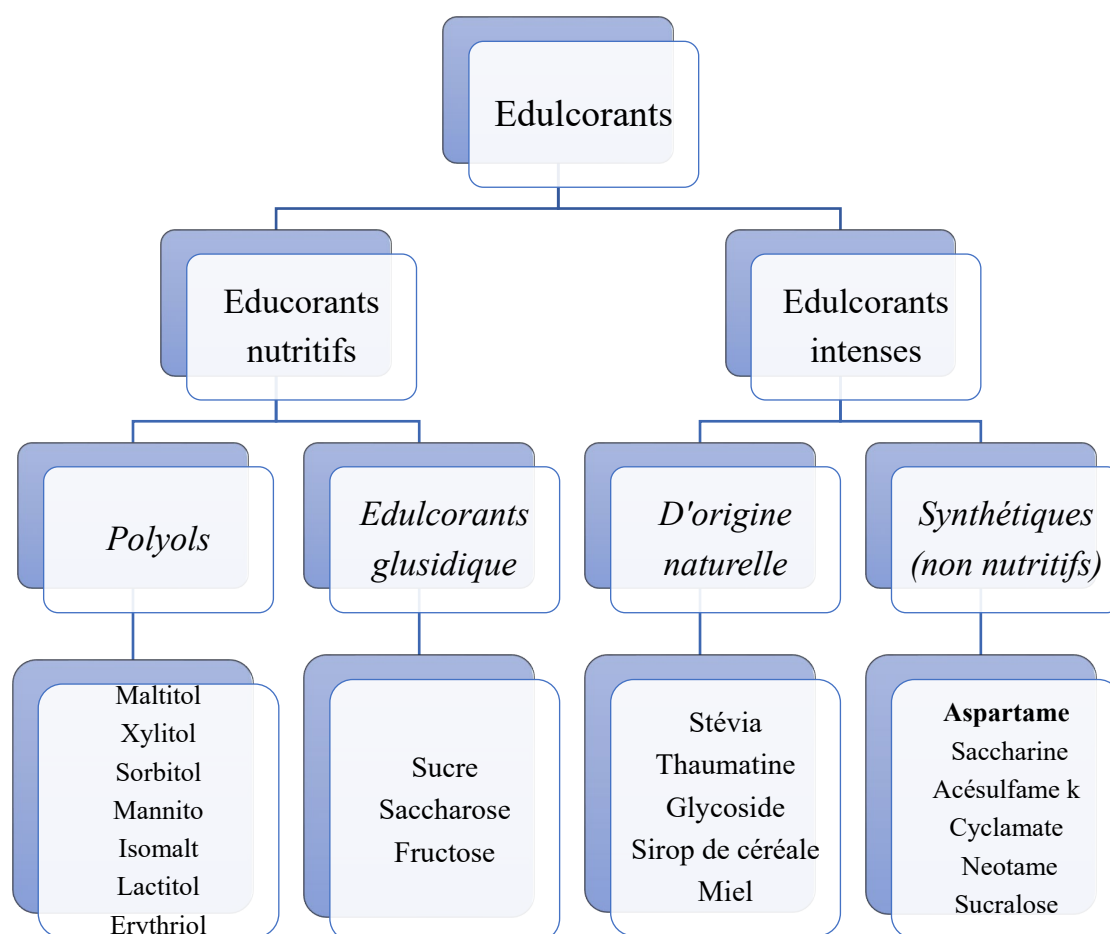


Figure 2 : Classification des édulcorants (**Jain et Grover, 2015**).

Actuellement, une variété d'édulcorants est disponible sur le marché. On distingue deux catégories, en fonction de leur pouvoir sucrant.

a. Les édulcorants nutritifs

Les édulcorants nutritifs peuvent également être nommés édulcorants de charge, de masse ou polyols (Clarisse *et al.*, 2009).

Ils possèdent un pouvoir sucrant inférieur ou voisin de celui du sucre, qui entrent dans les informations à des fortes concentrations, et même apportant une grande partie de charge nutritive tels que les glucose, fructose, et les alcools (sorbitol, maltitol ...) (Edwards *et al.*, 2016). Ces derniers sont produits par hydrogénation des glucides très employés par l'industrie agro-alimentaire.

Le pouvoir sucrant des polyols est proche de celui du saccharose entrant dans la fabrication de produits light ou sans sucre les polyols sont moins absorbés que le saccharose mais leur métabolisme conduit à du glucose les polyols sont donc caloriques 2,4 kcal/g et font modestement augmenter la glycémie [4].

b. Les édulcorants intenses

Les édulcorants intenses sont ceux qui présentent un pouvoir sucrant élevé, qui est de 30 à 500 fois supérieur à celui du saccharose, et qui ne sont donc nécessaires qu'à très faible dose pour obtenir un pouvoir sucrant intense (Carocho *et al.*, 2017).

La valeur énergétique apportée par ces substances est nulle (Elatyqy, 2011).

Les composés intensément sucrés se divisent en deux groupes : les édulcorants naturels d'origine végétale et les composés synthétiques (Sardesai *et al.*, 1991) (Fig. 3).

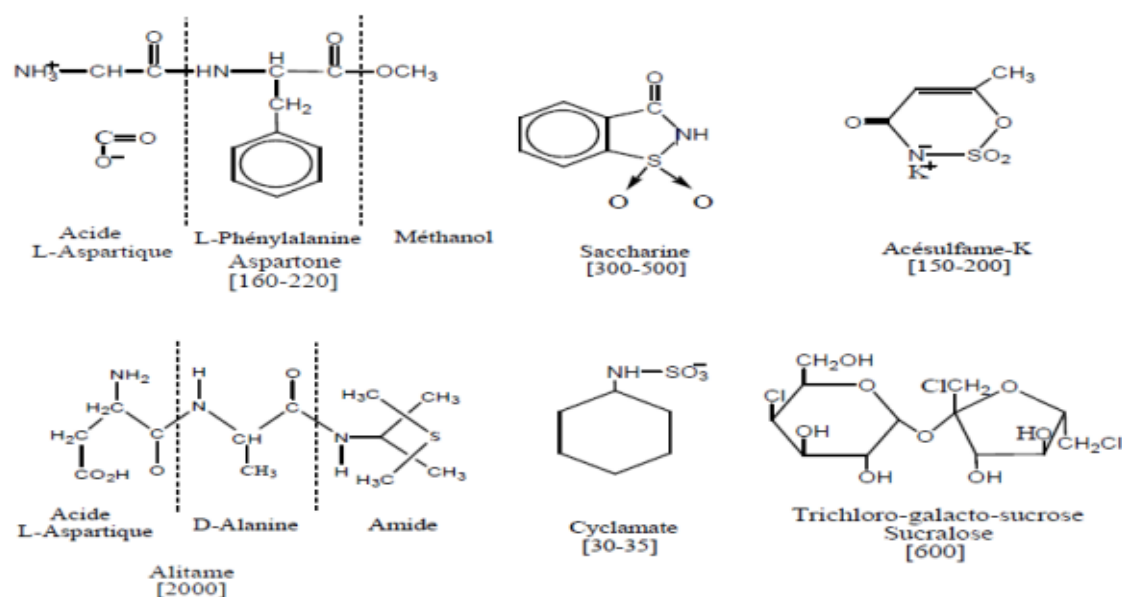


Figure 3 : Structure chimique des édulcorants intenses (Linden et Lorient, 1994)

○ Les édulcorants intenses d'origine naturelle

Ils constituent des alternatives au sucre très puissantes, utiles, sûres et peu caloriques (**Priya et al., 2011**).

Parmi ces édulcorants : le saccharose est le sucre habituel naturel le plus connu de notre alimentation (**Clarisse et al., 2009**).

○ Les édulcorants intenses d'origine artificielle

Les édulcorants artificiels à haute intensité constituent une catégorie importante d'additifs alimentaires, qui sont couramment utilisés dans les industries de l'alimentation, des boissons, de la confiserie et de la pharmacie, de goût sucré mais avec un apport énergétique alimentaire faible ou nul. L'apport calorique peut donc être limité dans de nombreux produits (**Zygler et al., 2009**).

Ils sont consommés par ceux qui souhaitent ou doivent limiter leur apport en sucre et/ou en calories, en particulier des sujets en surpoids ou obèses et des diabétiques (**Coutin et Mignon, 2009**).

Parmi les édulcorants artificiels les plus utilisés figurent l'acésulfame-K, le cyclamate de sodium, l'aspartame et la saccharine de sodium (**Ali et al., 2021**) (Tab. 1).

Tableau 1 : Les édulcorants intenses chimiques (synthétiques) (**Alais et al., 2003**).

Nom	N° CE	Pouvoir sucrant (*)	Observations
Acésulfame K	E 950	150	DJA : 9 mg/Kg/j
Aspartame (L-Asp-L-Phe-méthyl ester)	E 951	160	DJA : 40 mg /Kg /j Contre indiqué pour les sujets phénylcétonurique
Cyclamate de sodium	E 952	40	Toxicité
Saccharine (Na)	E 954	300	DJA : 2.5 mg/Kg/j arrière-gout amer / toxicité

4. Les caractéristiques d'un édulcorant

- Posséder une saveur sucrée sans arrière-goût
- Remplir les mêmes fonctions que le sucre qu'il substitue tout en ayant une charge calorique la plus basse possible
- Être chimiquement stable et inerte physiologiquement
- Être non toxique
- Apporter les mêmes goûts et apparences au produit fini que les produits traditionnels pour être adopté plus facilement par le consommateur
- Présents sous différentes formes facilement utilisables (tablettes, poudres, etc.) (**Gardner et al., 2012 ; Pereira .2013 ; EFSA, 2014 ; Webb et al., 2020**).

Les édulcorants sont donc utilisés pour :

- Garder le plaisir du goût sucré ;
- Diminuer la charge énergétique ;
- Remplacer le saccharose ; moduler l'index glycémique ;
- Proposer des préparations culinaires appréciables.

(Chenouf, 2012)

5. Effets des édulcorants sur la santé

La consommation d'édulcorants s'est très largement développée au cours des dernières décennies. C'est ainsi que l'étude américaine National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) a mis en évidence que leur utilisation régulière était passée, entre 1999 et 2007, de 6,1 à 12,5 % chez les enfants et de 18,7 à 24,1 % chez les adultes **(Belhamra Z, 2017)**.

Des études épidémiologiques solides indiquent que leur utilisation régulière est associée, de façon indépendante, à un risque accru de plusieurs maladies telles que l'obésité et le diabète de type 2 **(Anne-Claire, 2019)**.

La consommation d'édulcorants intenses est très populaire car ils sont faibles en calories. Bien que, l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) a approuvé l'aspartame, l'acésulfame-k et cyclamate pour une utilisation selon la valeur de la dose journalière acceptable, mais il est de plus en plus évident que les produits de dégradation de ces édulcorants peuvent produire des effets métaboliques nocifs dans les tissus viscéraux et cérébraux. Ainsi, la sécurité des édulcorants a une préoccupation, particulièrement pour leurs effets neurologiques et les risques liés au cancer **(Farooqui, 2015)**.

En effet, l'aspartame est composé de phenylalanine, acide aspartique et le méthanol. La Phenylalanine règle les neurotransmetteurs, tandis que l'acide aspartique joue un rôle important dans l'incitation excitotoxique dans le cerveau alors que le méthanol est oxydé en formaldéhyde et dicétopipérazine, ce dernier est un composé cancérigène **(Farooqui, 2015)**.

La consommation d'un édulcorant intense avec le sucre de la nourriture et/ou de la boisson entraîne l'absorption rapide du sucre suite à la sécrétion d'insuline, affectant ainsi potentiellement le poids, l'appétit et la glycémie **(Farooqui, 2015)**.

6. Les avantages et les inconvénients des édulcorants

6.1. Avantages

Les édulcorants remplacent le sucre par des équivalents gustatifs qui n'apportent que peu ou pas aucune calorie.

Comme ils ne fournissent que peu ou pas d'énergie, ils sont utilisés pour aider les personnes ayant un contrôle du poids à limiter leur apport calorique et à réduire leur apport sucre dans leur alimentation, les patients diabétiques nécessitant un contrôle de leur apport en glucides peuvent également bénéficier d'édulcorants artificiels car ils n'affectent pas la glycémie, et comme ils ne provoquent pas de gain de poids, ils aident à mieux gérer le diabète.

Cependant, un autre édulcorant, les alcools de sucre, tels que le maltitol et le sorbitol, ont un léger effet sur la glycémie. Ces édulcorants ont également l'avantage de contribuer à améliorer l'hygiène buccodentaire car ils sont non carieux.

6.2. Inconvénients

Un diététicien déconseillera parfois l'utilisation d'édulcorants pour certaines raisons :

- Les raisons les plus souvent invoquées sont d'ordre psychologique à ces produits maintiendront le goût du sucre et, par conséquent, les consommateurs réguliers du produit sucrés avec des édulcorants forts ont tendance à choisir des produits plus sucrés, qui en particulier, l'obésité est favorisée par l'augmentation de l'apport calorique.
- Plus de 30 grammes par jour, les polyols peuvent provoquer des douleurs abdominales par ballonnements et des diarrhées s'ils sont consommés en trop grande quantité (**Fredot, 2012**).
- Ils habituent de plus en plus au goût sucré, ce qui peut amener à manger plus de desserts, de barres chocolatées, ou de laitages édulcorés. Même si c'est de façon beaucoup moins marquée que pour les aliments sucrés, les aliments ou les boissons sucrés aux édulcorants intenses déclenchent une sécrétion d'insuline par le pancréas (**Serion, 2010**).
- Une autre raison arguée est que, en dépit de leur apport calorique faible ou nul, ils peuvent entraîner une réponse de l'insuline, quoique faible, étant donné leur saveur sucrée, ce qui peut ne pas être souhaitable dans certaines circonstances (notamment chez les diabétiques de type 2, en dehors des repas).

II. L'aspartame

1. Définition

L'aspartame est un édulcorant artificiel connu sous le nom de E951. Il s'agit d'un composé chimique qui appartient au groupe des esters peptidiques.

L'aspartame est un dipeptide synthétique formé par la réaction de l'acide L-aspartique avec l'ester méthylique de la L-phénylalanine Ester (**Rangan et Barceloux, 2009**). C'est une poudre blanche, cristallisée, sans odeur.

Son pouvoir sucrant est 180 à 200 fois supérieur à celui du saccharose (**Afssa, 2002 ; Marinovich et al., 2013**).

L'aspartame est incorporé dans plus de 6000 produits (**Rencüzoğulları et al., 2004**) pour édulcorer es boissons et aliments à faible apport calorique ainsi que les médicaments.

Du fait de la présence de phénylalanine, l'emploi de l'aspartame est déconseillé en cas de phénylcétonurie. La dose journalière admissible (DJA) est limitée à 40 mg/kg/jour.

L'aspartame est souvent utilisé comme substitut du sucre ou de la graisse. Il est couramment utilisé par les personnes souffrant de diabète en raison de son pouvoir sucrant élevé sans augmenter significativement la glycémie. Les eaux minérales aromatisées, les yaourts, les boissons isotoniques ou les sodas sucrés sont quelques-uns des produits qui contiennent cet édulcorant [5].

2. L'étiquetage concernant l'aspartame

L'aspartame est référencé dans l'Union Européenne par le code E 951. La lettre E confirme qu'il s'agit d'une autorisation étendue à toute l'Union Européenne. Quant au premier chiffre, il permet de classer les additifs selon leur nature, ainsi, le 9 indique qu'il s'agit d'un édulcorant.

La directive 94/35/CE relative aux édulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires oblige le fabricant à faire figurer sur les produits le code E 951 ou le mot « aspartame » [6].

Les aliments contenant de l'aspartame doivent être étiquetés avec les informations suivantes : "contient de la phénylalanine". En outre, l'étiquetage des aliments contenant de l'aspartame doit indiquer qu'ils ne sont pas recommandés pour la cuisson et la pâtisserie (**Haighton et al., 2019**).

3. La découverte et la mise sur le marché de l'aspartame

L'aspartame a été découvert en 1965 par James Schlatter, chimiste de la société G. D. Searle & Company aux États-Unis alors qu'il travaillait sur un traitement des ulcères gastriques. (Salminen et Hallikainen, 2001).

Sa première autorisation de mise sur le marché (AMM) a été délivrée aux États-Unis en 1974, puis suspendue quelques mois plus tard, face à des doutes sur un effet cancérigène.

Après réévaluation d'études animales une nouvelle AMM a été délivrée en 1981. En France son utilisation est autorisée depuis 1988 (Ngassa Ndeukou, 2014).

4. Structure et propriétés physico-chimiques

- La structure

L'aspartame est un dipeptide, dérivant de deux acides aminés, l'acide L-aspartique et l'ester méthylique de la L-phénylalanine. Son nom chimique est donc L-Aspartyl-L-phénylalanate de méthyle (Fig. 4).

Sa formule moléculaire est : $C_{14}H_{18}N_2O_5$.

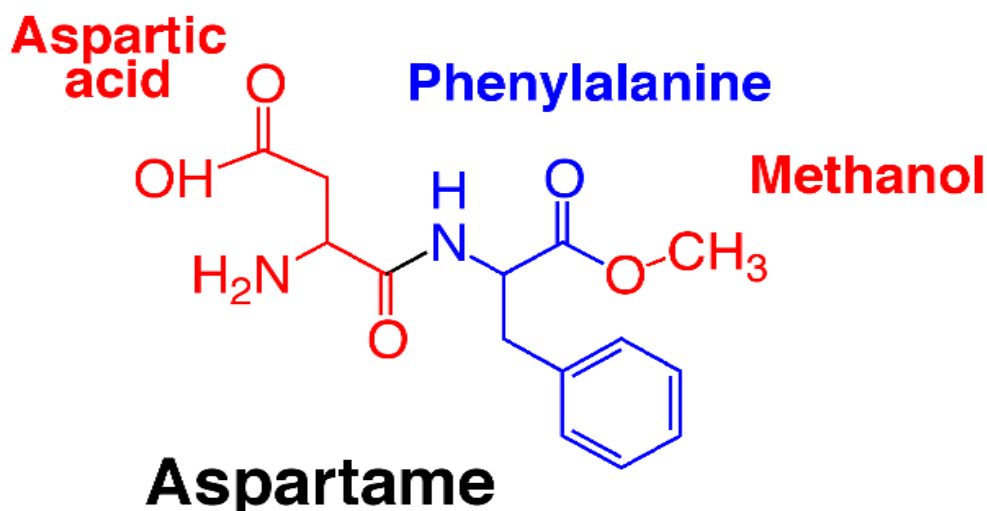


Figure 4 : Structure chimique de l'aspartame (Risk *et al.*, 2016).

- **Les propriétés physico-chimiques**

Identification et propriétés physico-chimiques de l'aspartame (**Tab. 2**) :

Tableau 2 : Structure et propriétés physico-chimiques de l'aspartame (**Boussena, 2022**).

ASPARTAME	
Identification	
Nom IUPAC	(3S) -3-amino-4-[(1S)-1-benzyl-2-(méthoxy-2-oxoéthylamino)-4-oxobutanoïque]
Synonyme	· Ester méthylé de N-L-α-aspartyl-L phénylalanine · Ester méthylé de l'acide 3-amino N-(α-carbométhoxy-éthoxyphényl) succinamique · L-Aspartyl-L-phénylalanate de méthyle
Référence	E 951
Apparence	Poudre cristalline blanche, légèrement hygroscopique
Propriétés chimiques	
Masse molaire	294,3031 +0,0144 g.mol ⁻¹
Propriétés physiques	
Température de fusion	Décomposition avant fusion. Le produit de la décomposition fond à 246°C
Température d'ébullition	>300°C à 1013,25 hPa
Pka	3,1 & 7,9 (25°C)
Solubilité	Dépend du pH et de la température. Peu soluble dans l'eau (10 g.l ⁻¹ à 20°C) et l'éthanol
Densité	1,271
Propriétés optiques	
Pouvoir rotatoire	[α] _{D22} = 2,3° dans HCl 1M

5. Utilisation de l'aspartame

On trouve de l'aspartame dans environ 6 000 produits à travers le monde, notamment dans les boissons gazeuses non alcoolisées, les boissons non alcoolisées en poudre, les chewing-gums, les confiseries, les gélatines, les préparations pour desserts, les puddings et les garnitures, les desserts glacés, les yaourts, les édulcorants de table et certains produits pharmaceutiques, tels que les vitamines et les pastilles contre la toux sans sucre.

Différentes agences de régulation alimentaire telles que la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis, le SCF (Scientific Committee of Food) puis l'EFSA (European Food and Safety Agency) en Europe, ou la JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), ont défini une dose journalière admissible d'aspartame (DJA), afin de réguler son utilisation. Cette valeur a été déterminée sur la base d'études de toxicité réalisées sur des animaux [7].

La DJA est de 40 mg/kg/j en Europe (SCF, 1985), de 50 mg/kg/j aux Etats-Unis (FDA, 1984) et de 40 mg/kg/j pour la JECFA (1980) (**Marinovich *et al.*, 2013**).

L'intérêt porté à l'aspartame vient de son fort pouvoir sucrant et de sa très faible teneur calorique. Il aiderait ainsi à contrôler des facteurs de risques cardiovasculaires tels que le diabète, et l'obésité (**Ngassa Ndeukou, 2014**).

6. Toxicité de l'aspartame

L'aspartame est un édulcorant catabolisé dans l'organisme en acides aminés (phénylalanine et acide aspartique) ainsi qu'en méthanol (**Anonyme, 2013 ; Msagati, 2013**). Il s'accumule lentement dans le corps pour ensuite perturber le cerveau et le système hormonale.

L'acide aspartique, représente 40% des produits de métabolisation de l'aspartame.

L'acide aspartique est un acide aminé qui détruit les cellules neurologiques du cerveau donc c'est un neurotransmetteur et provoque des pertes de mémoires neurologiques (sclérose en plaques, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, etc.). En effet, il n'est dangereux que lorsque son niveau dans le plasma dépasse 100 $\mu\text{mol/dL}$. Or, même à la dose extrême de 200 mg/kg de poids corporel, le niveau d'acide aspartique dans le sang n'approche pas le seuil réputé toxique. Par conséquent, cette toxicité ne se rencontrerait pas chez les humains suite à la consommation alimentaire habituelle d'aspartame.

La phénylalanine représente 50% des produits de métabolisation de l'aspartame. Elle présente un risque sur la santé des patients qui souffrent d'un trouble génétique du gène homozygote pour la phénylcétonurie (PCU), ne peuvent pas métaboliser la phénylalanine. Cela, est associé à un manque de phénylalanine hydroxylase qui hydrolyse la phénylalanine en tyrosine ce qui entraîne son accumulation dans le sang et le cerveau en provoquant ainsi des convulsions (**Msagati, 2013 ; Shankar *et al.*, 2013 ; Inetianbor *et al.*, 2015**).

Environ 10% de l'aspartame se dégrade en méthanol, il est métabolisé en formaldéhyde, acide formique et CO_2 , qui est connu comme étant toxique voire mortelle. Chez l'homme, une ingestion de méthanol à la dose de 200- 500 mg/kg de poids corporel est requise pour induire une accumulation de formate dans le sang et des effets toxiques sur la vision et le système nerveux central : ces doses sont plus de 100 fois supérieures à la dose maximum de méthanol apportée par l'aspartame. Il peut provoquer encore d'autres symptômes, tels que des maux de têtes, des trous de mémoire, des engourdissements, problèmes gastro-intestinaux, vertiges, etc.

Chapitre II
Toxicologie génétique

1. La génotoxicité

La toxicologie génétique est une discipline qui vise à détecter des agents chimiques ou physiques interagissant (directement ou non) avec l'ADN des cellules somatiques et/ou germinales et qui, en l'absence de réparation fidèle sont susceptibles de provoquer des mutations géniques et/ ou chromosomiques (**Thybaud *et al.*, 2007**). Ces mutations géniques et chromosomiques sont susceptibles d'initier un processus cancérogène lorsqu'elles ont lieu sur des cellules somatiques. En cas d'atteinte des cellules germinales, l'effet génotoxique risque d'entraîner une toxicité vis à -vis de la reproduction (reprotoxicité) et/ou un risque théorique de transmission des mutations à la descendance (**Meek *et al.*, 2003**).

2. La mutagénicité

La mutagénicité désigne spécifiquement la capacité d'une substance à induire des mutations, c'est-à-dire des changements dans la structure chimique de l'ADN. Il s'agit de la capacité d'un agent chimique, physique ou biologique à induire des mutations dans le matériel génétique d'un organisme [8].

Ces mutations peuvent altérer la séquence des nucléotides de l'ADN et avoir des conséquences diverses, allant de changements subtils à des modifications physiologiques plus importantes. Ces mutations peuvent survenir lors des processus de réplication ou de réparation de l'ADN et être transmises aux générations suivantes si elles surviennent dans les cellules germinales (spermatozoïdes ou ovules) [8].

3. Relation génotoxicité-mutagénicité

La structure de la molécule d'ADN est dynamique et sujette à des modifications constantes. Ces variations résultent, d'une part, d'erreurs spontanées et, d'autre part, de dommages à l'ADN causés par des agents physiques ou chimiques (UV, radiations ionisantes, produits chimiques), désignés comme génotoxiques. La majorité de ces lésions génétiques sont réparées et n'ont pas d'impact. Avec l'âge, ces processus de réparation perdent en efficacité [9].

La génotoxicité est la faculté d'une substance à endommager l'ADN d'une cellule alors que la mutagénicité est la capacité d'une substance à causer des mutations génétiques permanentes dans l'ADN et enfin la cancérogénicité est la faculté d'une substance à causer le développement de tumeurs ou de cancer [9].

Donc la génotoxicité et la mutagénicité partagent le thème général des dommages génétiques, elles représentent des aspects distincts des dommages causés au matériel génétique des cellules. Comprendre les mécanismes et les implications des substances génotoxiques et mutagènes est primordial pour évaluer avec précision les risques potentiels pour la santé humaine et l'environnement [8].

4. La cancérogenèse

Un cancérogène est un facteur provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer. Un agent physique ou chimique est cancérogène pour l'homme quand il provoque des lésions de l'ADN cellulaire qui déclenchent un processus complexe de transformation cancéreuse (Meyer *et al.*, 2004).

Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), un agent cancérogène est défini comme un agent qui peut augmenter le risque de cancer [10].

5. Les agents génotoxiques

Un agent génotoxique c'est un agent chimique ou un autre agent qui endommage l'ADN cellulaire, entraînant des mutations ou un cancer (Saks *et al.*, 2017).

Les principaux agents modifiant l'ADN sont les agents physiques génotoxiques qui comprennent principalement les radiations ionisantes et la lumière ultraviolette. Les produits chimiques génotoxiques incluent les agents alkylants et les agents intercalants (Tab. 3) (Bounias, 1999).

Tableau 3 : Principaux agents modifiant l'ADN (Bounias, 1999)

Agents chimiques génotoxiques	Agents physiques génotoxiques
Les agents alkylants (ou alcoylant) Exemple : - Le sulfate de méthylméthane (MMS). - L'éthylnitrosourée. Les agents intercalants Exemple : - Les anthracyclines. - Les anthracénediones, - L'amsacrine. - L'actinomycine D. - L'acétate d'ellipticinium. - La mithramycines. - Le bromure d'éthyl.	Les radiations ionisantes - Rayons X. - Rayons gamma. - Les ions lourds. Les radiations UV.

6. Les tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont des biomarqueurs (biomonitoring génétique) qui visent à mettre en évidence l'altération par des composés chimiques ou physiques du matériel génétique, pouvant conduire, si les lésions génotoxiques ne sont pas efficacement et correctement réparées par les systèmes enzymatiques adéquats, à des mutations (Fardel *et al.*, 2009).

Les détecteront donc principalement les lésions de l'ADN et/ou des chromosomes ou ses conséquences. Et de déterminer les méthodes et les essais à mettre en œuvre pour les quantifier.

Ils ne visent pas à détecter directement des cellules cancéreuses, mais des cellules normales ayant subi une atteinte ou agression génotoxique (Godet *et al.*, 1993).

6.1. Les tests procaryotiques

6.1.1. Test d'Ames ou Mutatest

Définition et principe

Le test d'Ames, parfois appelé mutatest, consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (Vasseur, 1994). Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente peuvent être utilisées, (Fardel *et al.*, 2009).

Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His(-) rend les souches incapables de se développer sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His(-) reversent spontanément vers His(+), les cellules retrouvent leur capacité à croître sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His(-) à des agents mutagènes [11].

Le test évalue alors la capacité de la substance toxique à induire une nouvelle mutation dans cette même région de l'ADN qui se traduira par la réversion de l'autotrophie de la souche bactérienne vis-à-vis de l'histidine. (Dégremont *et al.*, 2009) (Fig. 5).

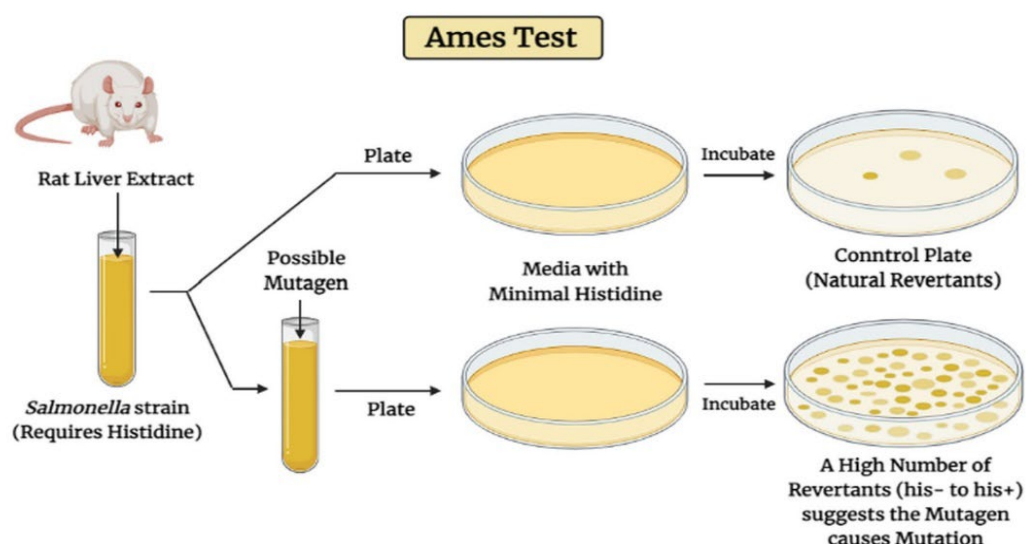


Figure 5 : Principe d'application du test d'Ames (Keshav *et al.*, 2021).

Particularité du milieu de culture

Certaines substances nécessitent un inducteur pour être mutagène. Un extrait de foie de rat appelé S9 Mix obtenu par ultracentrifugation est souvent ajouté à l'agar mou avant étalement. Cet extrait enzymatique convertirait les substances cancérigènes en dérivés électrophiles, plus susceptibles de réagir directement avec l'ADN, système absent chez les bactéries mais présent chez les mammifères. Ainsi de nombreux agents cancérigènes comme les aflatoxines ne deviennent actifs dans ce test qu'en présence de cet extrait de foie (**Lansing *et al.*, 2003**).

Les caractéristiques des souches tests

Les souches bactériennes de nature génétique différente utilisées sont porteuses de mutations His(-) différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés. En plus de ces mutations spécifiques sur l'opéron His, ces souches possèdent des caractères génétiques qui permettent d'augmenter leur sensibilité à l'agression génotoxique :

- **Mutation rfa** : cette mutation cause la perte partielle des polysaccharides à la surface de la barrière cellulaire de la bactérie ce qui augmente sa perméabilité aux grandes molécules qui sont incapables de pénétrer dans la cellule normale.
- **Mutation uvrB** : c'est une délétion du gène codant pour le système de réparation « excision resynthèse », conférant une augmentation de la sensibilité à la détection des mutagènes. Pour des raisons techniques la délétion du gène uvrB s'étend jusqu'au gène bio et par conséquent, la bactérie est aussi auxotrophe à la biotine pour croître.
- **Plasmide pKM 101** : Ce plasmide porte le gène de résistance à l'ampicilline (R – Factor), ces souches portant le facteur de résistance se révertent par des mutagènes qui sont faiblement détectés par les autres souches. pKM101 qui contient deux gènes amplifiant le processus SOS de réparation responsable de la mutagenèse induite (**Khallef, 2004**).

Les caractéristiques génotypiques de ces deux souches sont résumées dans le tableau 4 :

Tableau 4 : différentes mutations des souches utilisées (**Evind *et al.*, 1982 ; Maron et Ames, 1983 ; Mortelmans et Zeiger, 2000**)

Souches	Mutation	Réparation	LPS	Plasmide	Séquence spécifique d'ADN cible	Type de réversion
TA100	HisG 46	Délétion uvrB	rfa	pKM 101	-GGG-	Substitution
TA98	HisD 3052	Délétion uvrB	rfa	pKM 101	-CGCGCGCG-	frameshift

Les techniques disponibles pour effectuer le test d'Ames

○ Le spot-test

Qui est un pré-test. Le produit en solution est déposé sous forme de goutte sur le milieu minimal préalablement ensemencé avec la souche. Cette technique permet d'évaluer rapidement les doses à tester par les autres techniques.

○ La méthode standard

Le mélange produit-bactéries est étalé directement sur boîte de Pétri. C'est la méthode de référence.

○ La méthode avec pré-incubation en milieu liquide

Les bactéries sont placées en contact avec le produit en milieu liquide. Cette méthode permet de détecter certains produits qui sont négatifs par la méthode standard (30-90minutes) (Mortelmans et Zeiger, 2000).

Les avantages et les inconvénients de test d'Ames

➤ Les avantages

- Il est moins cher par rapport à d'autres tests
- Il est moins susceptibles d'identifier faussement un non cancérigène comme un cancérigène (Zeiger, 2013).
- Permet d'obtenir des résultats dans un délai très court
- La combinaison de fraction S9 à l'Ames permet de déterminer les métabolites génotoxiques (Pillco et Eduardo, 2014).
- Il est applicable à l'étude du pouvoir mutagène de produits chimiques ou de mélanges, mais aussi de fluides biologiques telles que les urines chez les sujets exposés (Fardel *et al.*, 2009).

➤ Les inconvénients

- Un test bactérien, pouvant rendre en théorie critiquable l'extrapolation à des cellules humaines
- Son utilisation pour la biosurveillance des sujets exposés ne témoigne cependant pas d'une génotoxicité (pas d'effet précoce génotoxique) (Fardel *et al.*, 2009).

6.1.2. Le SOS chromotest

Ce test basé sur l'utilisation de la bactérie intestinal E.coli PQ37 qui sous l'action d'agents génotoxiques, c'est-à-dire capables d'endommager l'ADN cellulaire va mettre en place un système de fonctions réparatrices appelés « fonctions SOS » qui vont éviter le blocage irréversible de la synthèse d'ADN. Ce système code pour une enzyme la β -galactosidase (β -gal), à l'aide d'un substrat qui peut être converti en composé coloré par la β -gal, le taux du dommage provoqué à l'ADN peut être mesuré par l'intensité de l'activité enzymatique.

Ce test peut être utilisé pour la détection de nombreux échantillons aqueux, c'est pourquoi, ce test est particulièrement adapté pour tester les échantillons pris de l'environnement (**Kroon et Van Mulem, 1999**) (Fig. 6).

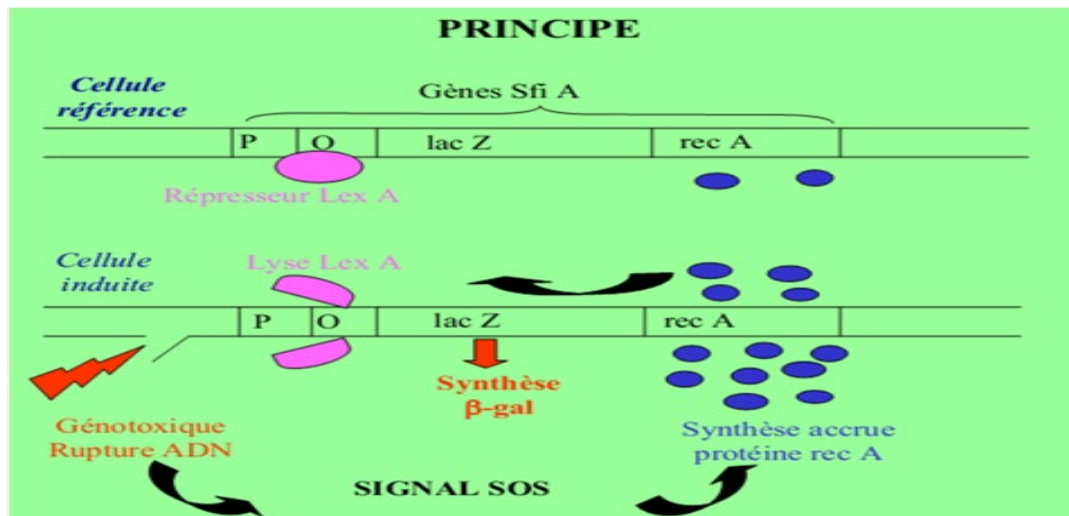


Figure 6: SOS chromotest (Quillardet *et al.*, 1985).

6.2. Les tests eucaryotiques

6.2.1. Test de Allium cepa

Le test Allium cepa connu depuis l'année 1930 et plus tard, 1985 normalisé par Fiskesjo (**Rank et Nielsen, 1997**). Ce test est utilisé pour l'étude des effets des substances toxiques sur les chromosomes et la division cellulaire des cellules méristématiques des racines de l'oignon (**Gracieli *et al.*, 2010**).

Le test d'allium consiste à mettre les racines en contact avec le liquide à tester pendant un temps bien déterminé ensuite les couper et les colorer pour bien visualiser les différents stades de la division cellulaire et évaluer le nombre de AC (Aberrations Chromosomiques) (**Cotelle, 1999**).

6.2.2. Test de comète

Le test des comètes ou *Single cell Gel Electrophoresis* (SCGE) est une méthode simple, économique, et sensible, permet de détecter les cassures simples et doubles brins au niveau de l'ADN, ainsi que les sites abasiques instables en milieu alcalin (**Dhawan *et al.*, 2009 ; Liman, 2013**).

Le principe de cette technique consiste à suspendre des cellules dans un gel d'agarose sur une lame de microscope, puis après une étape de lyse cellulaire et la libération des noyaux, ces derniers vont migrer dans un champ électrophorétique. L'ADN endommagé chargé négativement va migrer vers le pôle positif du champ d'électrophorèse, et si l'ADN n'a pas été endommagé il migre de façon homogène sous forme d'une sphère compacte après révélation de l'ADN par le bromure d'éthidium fluorescent (**Collin, 2004 ; Carla *et al.*, 2006**) (Fig. 7).

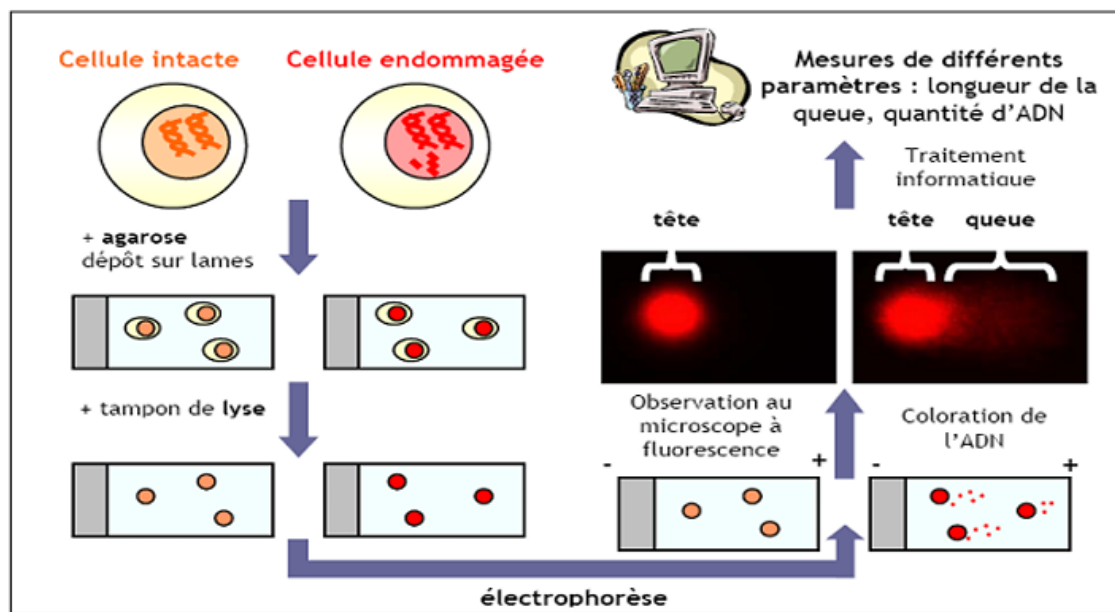


Figure 7 : Principe du test des comètes (Kerninon, 2003).

6.2.3. Test de micronoyaux (MN)

Le test de MN est pratiqué *in vivo* chez des mammifères en vue de détecter des lésions des chromosomes ou de l'appareil mitotique d'érythroblastes résultant de l'action d'une substance d'essai.

Il est basé sur l'analyse d'érythrocytes prélevés dans la moelle osseuse et/ou dans les cellules du sang périphérique d'animaux, généralement des rongeurs (Schmid, 1997).

Ces tests ont donc pour objet de détecter et quantifier ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (Mateuca *et al.*, 2006).

Ce test peut détecter les agents génotoxiques qui peuvent provoquer « aneuploïdie » par l'utilisation d'une technique d'hybridation *in-situ*, il s'agit de la technique « fish ». Utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent « centromères ». Où la présence d'un centromère dans le micronoyau permet d'identifier l'effet aneugène de génotoxique (Laura *et al.*, 2016) (Fig. 8).

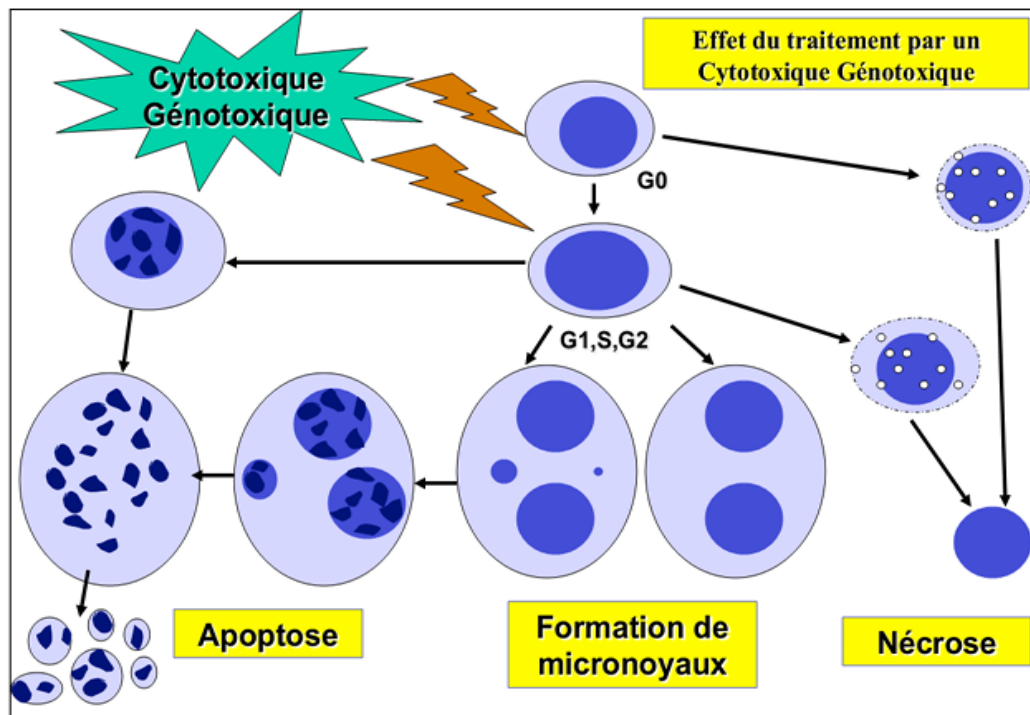


Figure 8 : Principe du test micronoyaux. [12]

PARTIE
EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes

La partie pratique de notre travail a été effectuée au laboratoire de microbiologie à l'université 08 mai 1945.

Sachant que le test d'Ames est très utile dans l'évaluation de la génotoxicité des produits chimiques, la vérification des caractères génétiques des souches utilisées *Salmonella thyphimurium* His(-) est très importante et doit être effectuée chaque fois qu'une expérience est envisagée.

Dans ce travail, nous avons commencé par vérifier les caractères génétiques des deux souches de *Salmonella thyphimurium* TA 98 et TA100.

1. Activation des souches bactériennes

1.1. La préculture de nuit

A partir des souches décongelées, on incube 20µl de chaque souche dans un tube contenant 10 ml de LB et on l'incube dans un bain Marie avec une agitation à 37°C pendant 18 à 24 heures.

1.2. Le ré-isolement des souches tests

A partir de la culture de nuit des souches et avec une anse de platine faire des stries dans des boîtes contenant du milieu LB solide et incubé à 37°C pendant 48h-72h. Les boîtes sont ensuite placées dans un réfrigérateur et serviront comme source de bactéries pour des tests ultérieurs. Cette conservation durera jusqu'à 2 mois.

1.3. La conservation des souches

On mélange 1ml de la culture bactérienne au 90 µl de glycérol, dans des Eppendorf de 1,2ml. La conservation se fait à -20°C. Le mélange est à renouveler chaque 6 mois (**Fig. 9**).

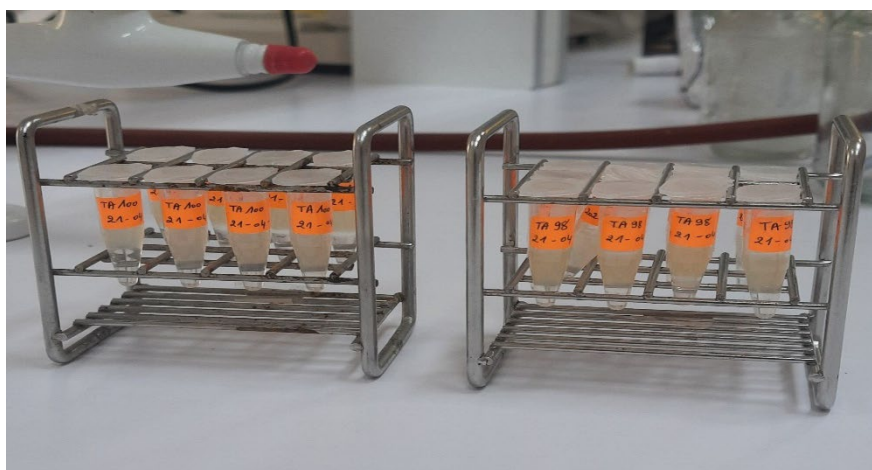


Figure 9 : Conservation des souches (Photo personnelle).

2. Vérification des caractères génétiques

2.1. La culture

On ensemence quelques colonies dans 10 ml de LB, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures avec agitation dans un bain Marie.

2.2. Culture de deux heures

À partir de la culture de nuit, on ensemence 20µl des souches tests dans 10 ml de LB puis on incube dans un bain Marie avec agitation pendant 2 heures à une température de 37°C.

Le but de cette étape est d'obtenir des souches dans la phase exponentielle de croissance.

2.3. La sensibilité aux UV

Le but de ce test est de vérifier l'existence de la mutation *uvrB*.

Dans une boîte contenant du LB solide, on ensemence horizontalement la souche test, puis avec une plaque de verre on cache la moitié de la boîte ensuite on irradie par une lampe à UV à une distance de 30 cm et ceci pendant 8 secondes. L'incubation pour 24h à 37°C.

2.4. La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au cristal violet

La présence du plasmide pKM101 est vérifié par la résistance à l'ampicilline chez les deux souches tests.

La sensibilité au CV est le résultat de la mutation *rfa*. Ces deux caractéristiques sont testées simultanément.

On prépare 4 disques de papier Whatman, chaque disque est déposé sur boîte de gélose LB imbibé de 10µl d'une des solutions suivantes :

- Solution de CV à 1mg/ml ;
- Solution d'ampicilline à 10 mg/ml ;
- Solution de DMSO ;
- L'eau distillée stérile comme témoin.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h (**Fig. 10**).

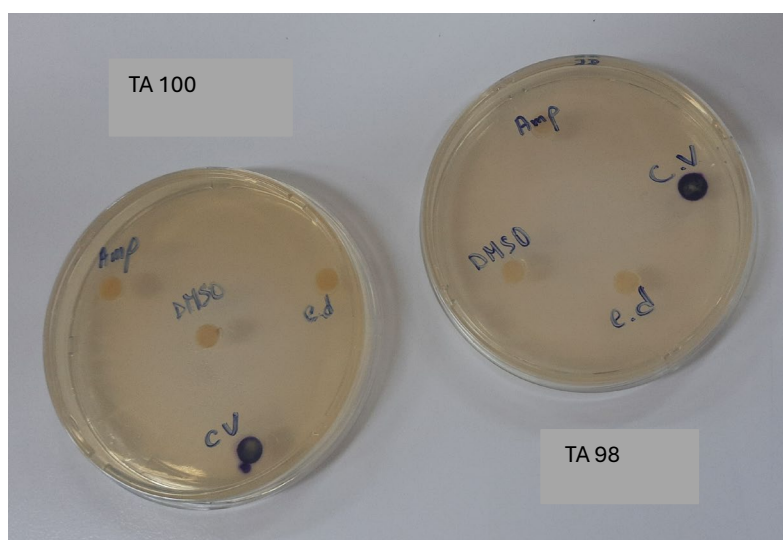


Figure 10 : Test de vérification des caractères génétiques des souches tests (Photo personnelle).

2.5. Réclamation de l'Histidine

La mutation His⁻ rend les bactéries auxotrophes à cet acide aminé, dans le milieu LB solide contenant obligatoirement la biotine à 0,0013% ; et de l'histidine à 0,5%, on ensemence les deux souches puis on incube à 37°C pour 24h.00.

3. Evaluation de la mutagénicité de l'aspartame

3.1. Les révertants spontanés

Lorsque les bactéries dépendantes de l'histidine sont cultivées sur le milieu agar minimal au glucose (GM) contenant une trace d'histidine, seules les cellules qui redeviennent indépendantes de l'histidine (His⁺) sont capables de former des colonies.

Procédure

Dans un tube à essai on place 100 µl de la culture de nuit, 2 ml de « top Agar » et 200 µl de la solution histidine-biotine, l'ensemble est étalé à la surface de la gélose GMA (gélose minimal agar) préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri.

Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 48 h.

3.2. Le test de mutagénèse

Trois différentes doses d'aspartame ont été utilisées (dose 1 = 100 mg/l, dose 2 = 200 mg/l et dose 3 = 400 mg/l) avec 3 boîtes pour chaque dose.

Procédure

Dans un tube à essai on mélange 100 μ l de la culture de nuit avec 100 μ l de l'échantillon à tester " l'aspartame ". Les tubes sont incubés à 37°C pendant 20 min, ensuite 2 ml de l'agar molle est additionné à 200 μ l de la solution histidine/biotine et l'ensemble est ajouté au tube contenant l'échantillon à tester. Le mélange est ensuite étalé à la surface des boîtes de GMA. Incubation des boîtes à 37°C pour 48h.00 (Maron et Ames, 1983 ; Lupi *et al.*, 2009 ; Liman *et al.*, 2010) (Fig. 11).

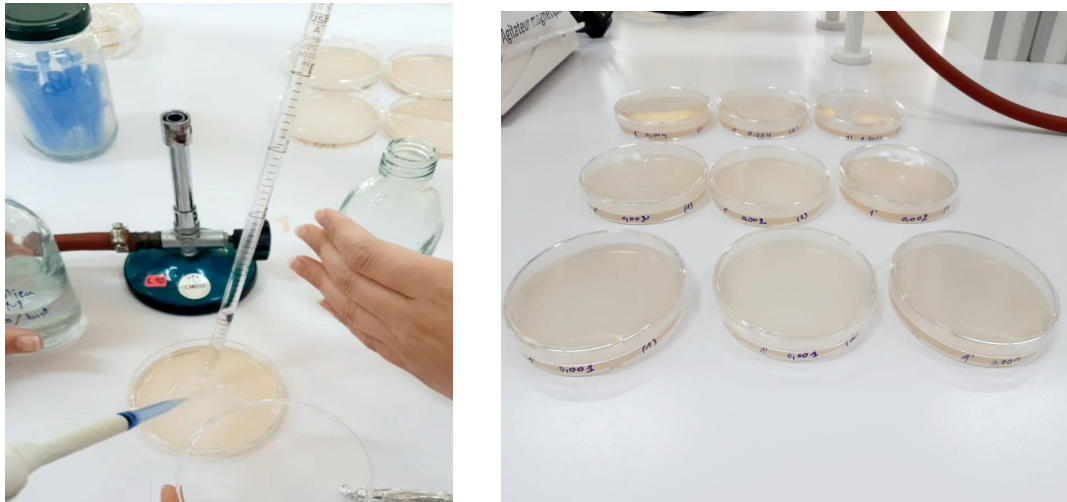


Figure 11 : Procédure du test d'Ames (Photo personnelle).

Résultats et discussion

1. Vérification des caractères génétiques

Les résultats de la vérification des caractères génétiques des souches d'Ames *salmonella typhimurium* de type TA98 et TA100 sont comme suite :

1.1. Sensibilité aux UV

Les souches TA 100 et TA 98 poussent sur toute la surface de la boîte parce la lampe disponible au niveau du laboratoire et utilisé dans ce test est à 15w alors que ce test de sensibilité aux UV nécessite une lampe à UV germicide à 60W (**Fig. 12**).

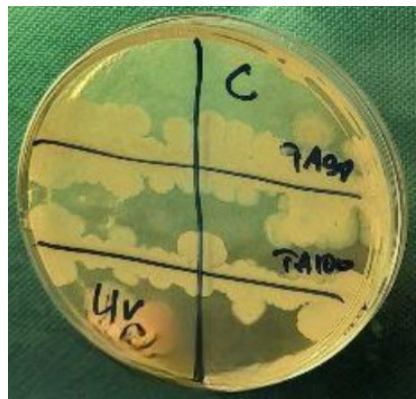


Figure 12 : Effet des UV sur les souches d'Ames (TA 98 TA 100) (Photo personnelle).

1.2. La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au cristal violet

On observe après l'incubation, une poussée des souches d'Ames autour des disques imbibés par l'Ampicilline, l'eau distillée et DMSO et des zones claires autour des disques imbibés par le CV

Ces résultats confirment que les deux souches sont porteuses à la fois du :

- Plasmide pKM101 qui confère à la souche le pouvoir de résistance à l'ampicilline (**Fig. 13**).
- La mutation *rfa*, qui permet d'augmenter la perméabilité des deux souches aux macromolécules qui sont normalement incapables de pénétrer dans la cellule normale. Donc cette mutation rend les bactéries sensibles au cristal violet (**Fig. 14**).

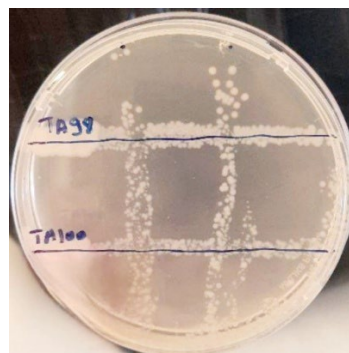


Figure 13 : La résistance à l'AMP (Photo personnelle).

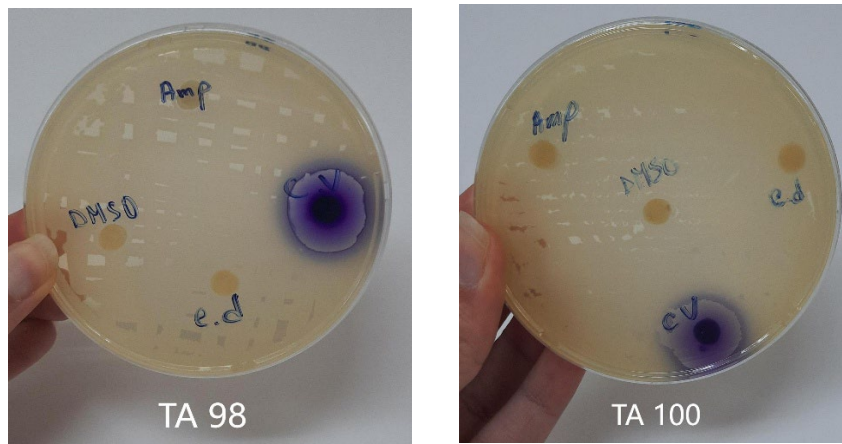


Figure 14 : Effet du CV, DMSO et du l'AMP sur les souches d'Ames (photo personnelle).

1.3. Réclamation de l'histidine

Après l'incubation, on a constaté que les deux souches poussent sur les boîtes contenant le mélange histidine / biotine (**Fig. 15,1**) et non pas sur les boîtes contenant uniquement la biotine (**Fig. 15,2**).

Ce résultat confirme que les souches sont auxotrophes à l'histidine donc elles possèdent la Mutation His G46 chez la souche TA100 et la mutation His D3052 chez la souche TA98.

La réversion de cette mutation est d'ailleurs à la base des tests utilisés pour l'évaluation du pouvoir mutagène des substances chimiques et ceci a été montré par les travaux d'Ames (1983).

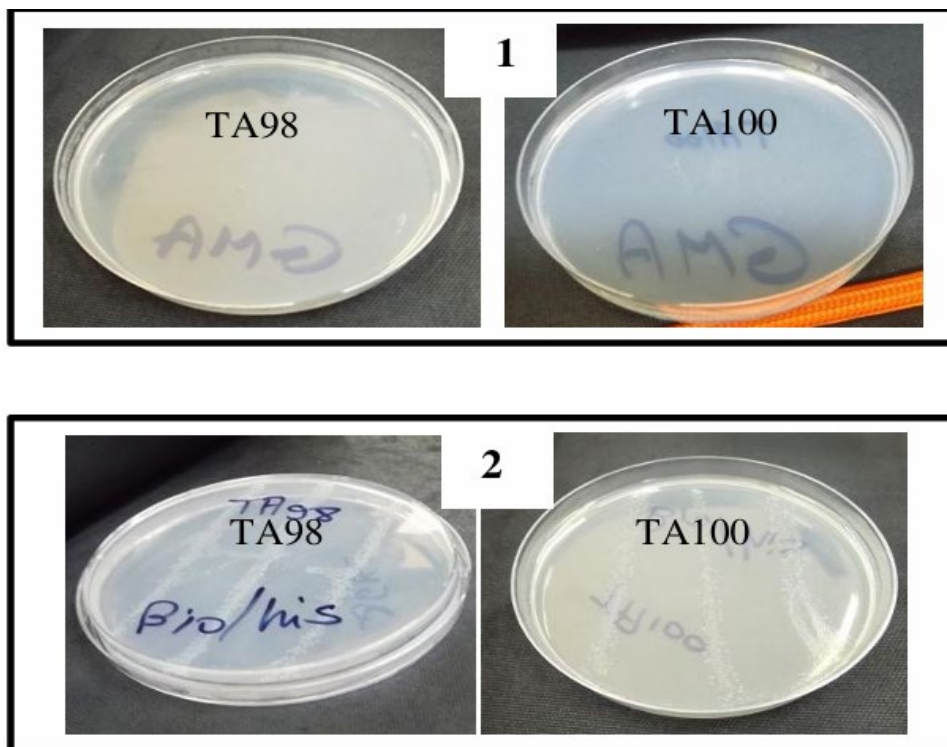


Figure 15 : Réclamation d'histidine (1- sans histidine 2- avec histidine).

2. Résultat des révertants spontanés

La petite quantité d'histidine permet à toutes les bactéries ensemencées de subir quelques divisions cellulaires ; dans de nombreux cas, cette croissance est essentielle pour que la mutagenèse se produise. Les révertants His⁺ sont facilement identifiés comme des colonies de petites tailles. Le nombre de colonies révertantes spontanément induites est relativement constant pour chaque souche.

Ce nombre de révertants spontanés est trouvé dans les valeurs normales pour les deux souches étudiées (Mortelmans et Zeiger, 2000) (Fig. 16).

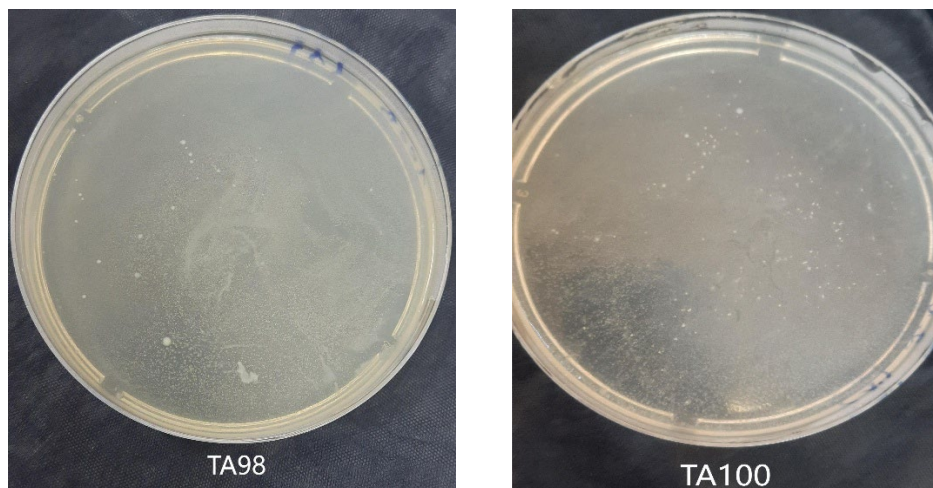


Figure 16 : Résultats des révertants spontanés (Photo personnelle).

3. Résultat du test d'Ames

Lorsque l'on ajoute un produit mutagène à la plaque, le nombre de colonies révertantes par plaque augmente, généralement de manière proportionnelle à la dose. Dans cette étude, le nombre de colonies révertantes obtenu est présenté dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Nombre de révertants du test d'Ames.

Les doses	Nombre de révertants His ⁺ moyenne $\pm$ SD*	
	TA 98	TA 100
100 mg/l	507 $\pm$ 99,13	54,66 $\pm$ 12,01
200 mg/l	522,6 $\pm$ 150,83	393,6 $\pm$ 69,50
400 mg/l	695 $\pm$ 130,66	52,3 $\pm$ 10,69
Les révertants spontanés	39	165
Contrôle négatif	23,33 $\pm$ 5,85	107,33 $\pm$ 6,42
Contrôle positif	1485,4 $\pm$ 134,61	1876,2 $\pm$ 109,34

L'activité mutagène de l'aspartame a été analysée en utilisant les souches de *S. typhimurium* TA98 et TA100 en absence de mélange S9-mix (**Fig. 17**).

Le nombre des révertants du contrôle négatif était de $(23,33 \pm 5.85)$ pour TA 98 et $(107,33 \pm 6,42)$ pour TA 100.

La valeur la plus élevée observée était avec la souche TA 98 avec la dose 200 mg/l $(522,6 \pm 150,83)$, et a valeur la plus faible observée était avec la dose 100 mg/l $(507 \pm 99,13)$.

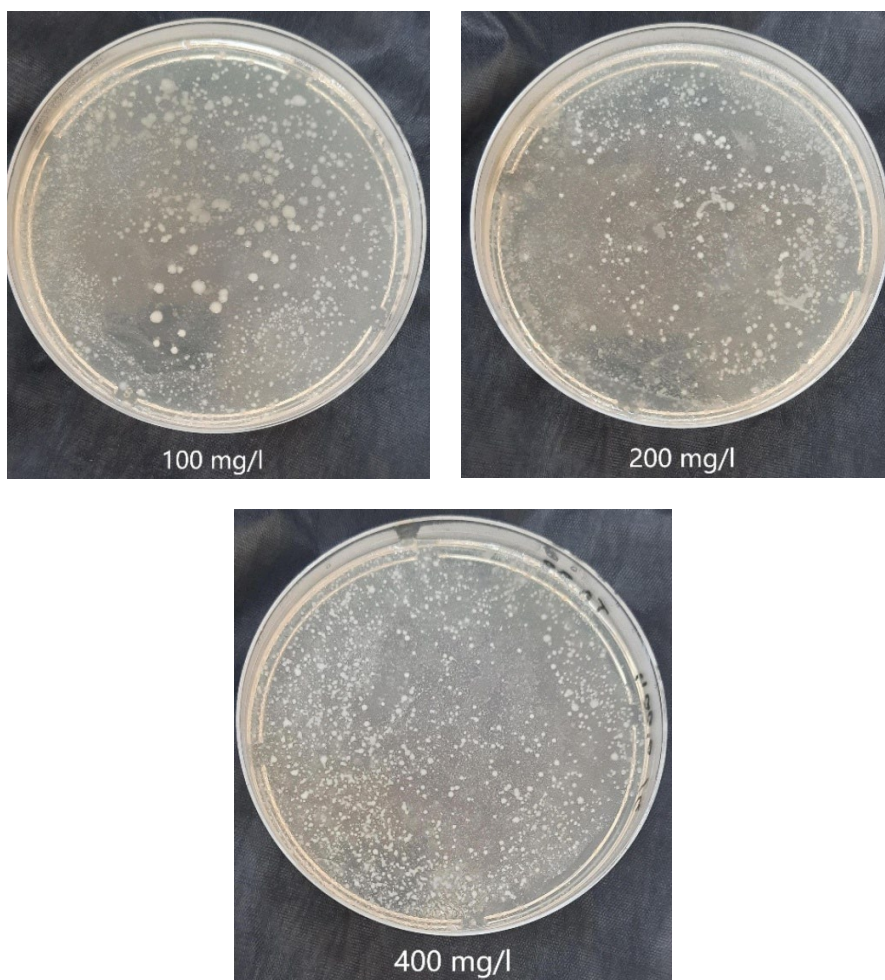


Figure 17 : Résultats des révertants de la souche TA 98 avec les trois doses
(Photo personnelle).

On observe une augmentation du nombre de révertants His⁺ en fonction des doses testés par rapport aux révertants spontanés et au contrôle négatif. Ceci indique qu'il y d'abord une relation dose-effet et aussi, ce résultat a montré que l'aspartame exerce un effet mutagène sur *S. typhimurium* TA 98 (**Fig. 18**).

Selon **Ahmed et Thomas (1992)**, le cyclamate (édulcorant) n'était pas cancérigène en soi, cependant, il pourrait avoir des activités cancérigènes ou promoteurs de cancer. Dans leur étude, ces auteurs ont constaté que l'aspartame semblait avoir un potentiel génotoxique cohérent avec un potentiel cancérigénicité. Selon leurs résultats, la phénylalanine et le méthanol, qui sont des produits métaboliques de l'aspartame, présentent un risque génotoxique pour les humains.

L'aspartame est une source mineure de phénylalanine, d'acide aspartique et de méthanol en comparaison des apports alimentaires courants de ces substances. Ceux-ci ne peuvent donc pas être à l'origine des effets neurologiques nocifs attribués à l'aspartame.

Shephard et al., (1991) ont rapporté que l'aspartame a un faible effet mutagène dans le test d'Ames après nitrosation. **Shephard et al. (1993)** ont rapporté que, dans l'estomac humain, la nitrosation en chaîne des acides aminés (Phe) et de l'aspartame pourrait être plus importante que les réactions au niveau du groupe amino primaire.

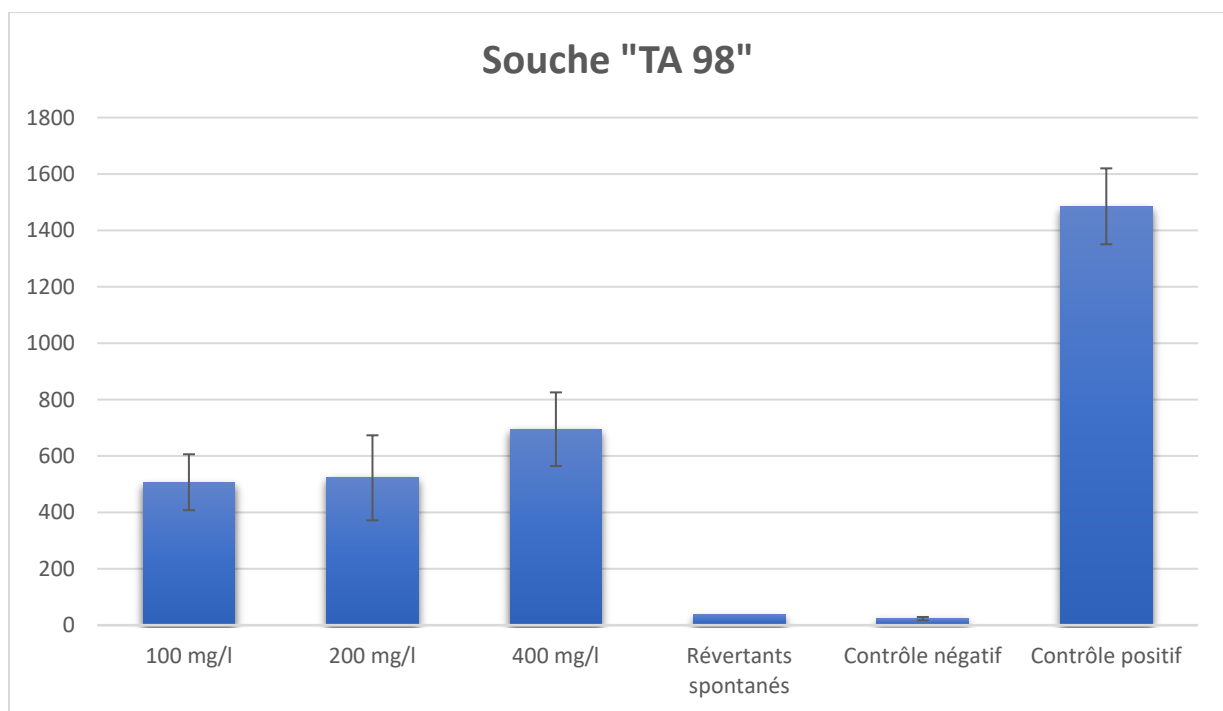


Figure 18 : Histogramme du nombre de révertants TA 98.

Avec la souche TA 100, la valeur la plus élevée observée était avec la dose 200 mg/l ($393,6 \pm 69,50$), et des valeurs faibles et proches avec les doses 100 et 400 mg/l ($54,66 \pm 12,01$ et $52,30 \pm 10,69$ respectivement) (**Fig. 19**).

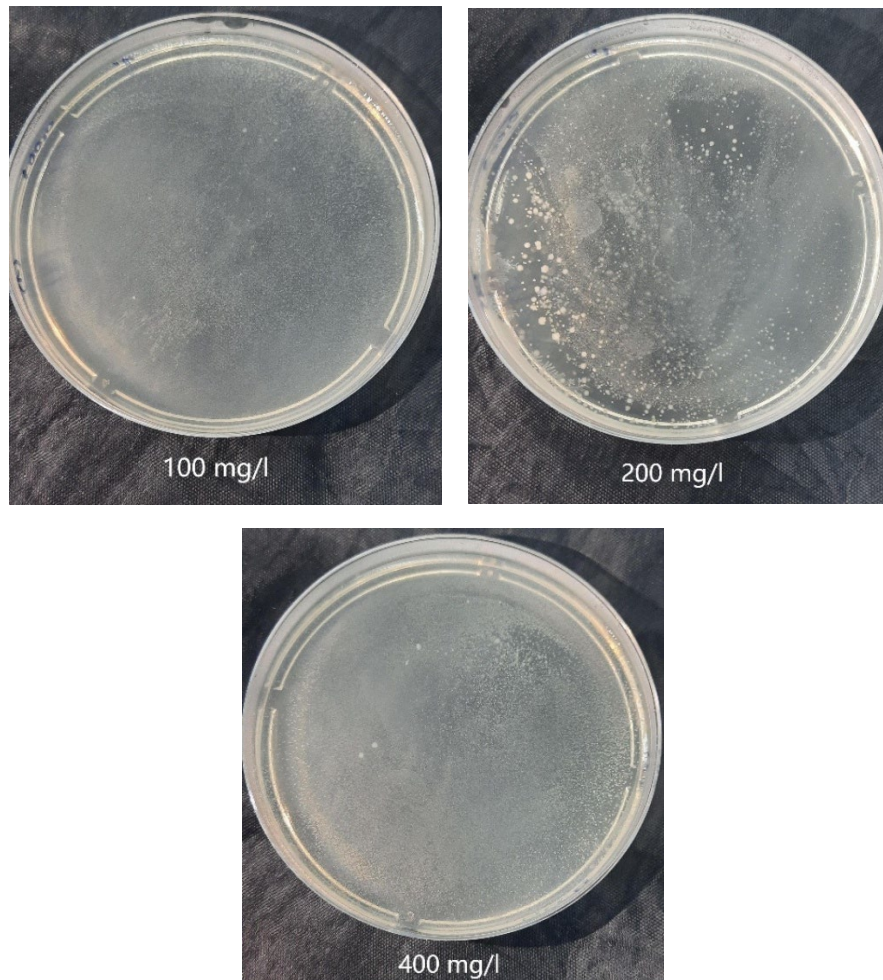


Figure 19 : Résultats des révertants de la souche TA 100 avec les trois doses
(Photo personnelle).

Avec la souche TA 100, on a constaté que seule la dose de (200 mg/l) entraîne une augmentation notable du nombre de révertants ($393,6 \pm 69,5$), alors que les autres doses (100 et 400 mg/ml) donnent des résultats inférieurs rapport aux révertants spontanés et au contrôle négatif. Ce résultat montré que l'aspartame n'est pas un agent mutagène direct sur cette souche (**Fig. 20**).

Cependant, selon **Bandyopadhyay et al., (2008)**, l'aspartame provoquait des cassures d'ADN dans les cellules de la moelle osseuse de souris, détectées par le test de comète.

Les travaux de **Rencuzogullari et al., (2004)** ont rapporté une augmentation faible mais statistiquement significative des mutations dans la souche TA100 en l'absence d'activation métabolique, bien que l'effet ne soit pas dépendant de la concentration.

Par ailleurs, **Shephard *et al.* (1991, 1993)** ont rapporté que l'aspartame était mutagène dans les souches *S. typhimurium* TA98 et TA100 après sa nitrosation. Cependant, la mutagénicité était positivement corrélée à l'étendue de sa nitrosation, mais cet effet était atténué par l'incubation de l'aspartame nitrosé avec des enzymes S9 hépatiques de rat. À cet égard, l'aspartame ne diffère pas des autres peptides nitrosables.

Schwartz (1999) a également rapporté que le méthanol est converti en formaldéhyde qui s'accumule ensuite dans les cellules. Le formaldéhyde a été considéré comme un inducteur de cancer et agit en altérant l'ADN (**Ewertz, 1993 ; Ewertz et Gill, 1990**). **Olney *et al.* (1996)** ont examiné et ont expliqué que l'aspartame avait un potentiel mutagène.

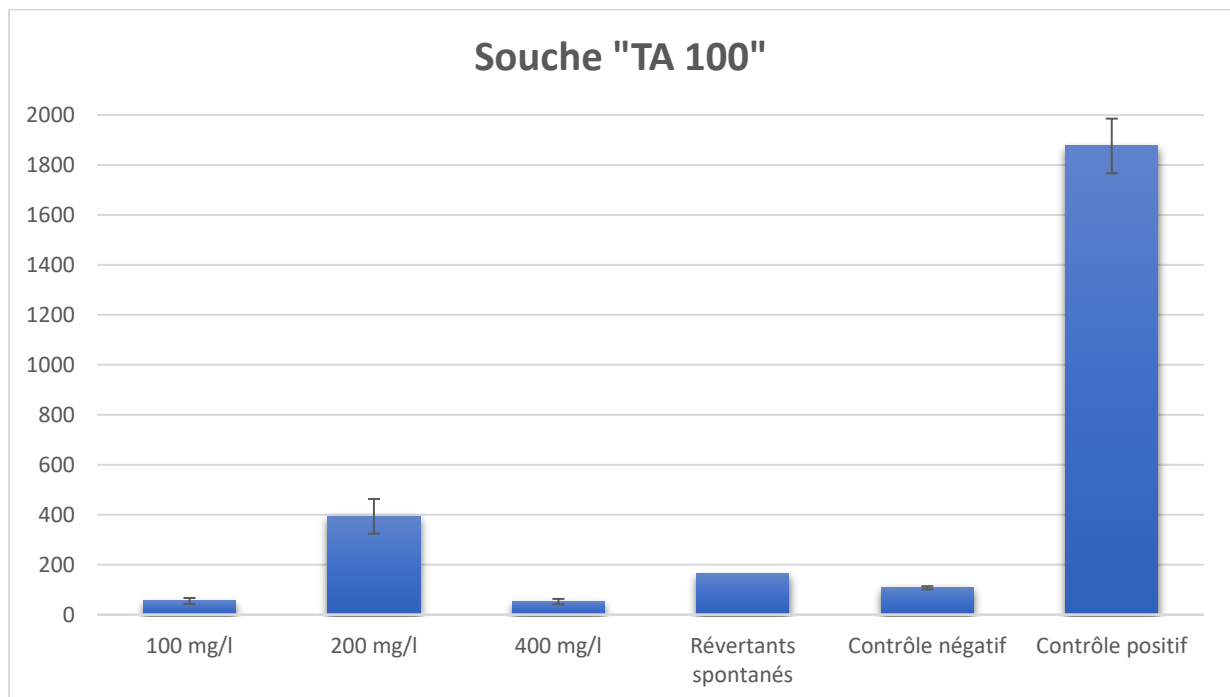


Figure 20 : Histogramme du nombre de révertants TA 100.

Conclusion et perspectives

Les édulcorants sont employés dans les produits alimentaires afin de leur donner une saveur sucrée sans apport de calorie, ainsi ils permettent de remplacer les sucres à pouvoir énergétique élevé par des équivalents gustatifs à pouvoir énergétique bas.

Cependant, il y a eu des études scientifiques et des controverses autour de son utilisation, notamment en ce qui concerne ses effets potentiels sur la santé, tels que les risques de cancer, les problèmes de santé neurologiques, etc.

Plusieurs travaux sur les effets néfastes de l'Aspartame ont montré qu'il ne constitue pas une solution pour remplacer la consommation de sucre, car il induit une hyperglycémie et est à l'origine de nombreuses maladies telles que le diabète, l'obésité et l'hypertension artérielle.

Le présent travail a pour intérêt d'évaluer le pouvoir mutagène de l'aspartame, et ceci en testant plusieurs doses d'aspartame sur deux souches d'Ames (TA 98 et TA 100).

Les résultats obtenus ont montré un effet mutagène des trois doses testées sur la souche TA 98 avec une relation dose effet, en revanche seule la dose de (200 mg/l) a montré un effet mutagène sur la souche TA 100. La dose faible (100 mg/l) n'a pas montré d'effet mutagène sur la souche, en revanche avec la dose forte (400mg/l), le faible membre de révertant peut être expliqué par un effet toxique de cette dose sur la souche TA 100.

Cette étude fait suite d'une étude précédente toujours sur l'aspartame mais testé pour évaluer son pouvoir génotoxique sur des cellules eucaryotes (*Allium cepa*) et qui a montré que l'aspartame induit des aberrations chromosomiques et des effets sur l'indice mitotique des cellules de bulbes d'oignons.

D'autres travaux ont montré qu'il provoque des cassures d'ADN dans les cellules de la moelle osseuse et des micronoyaux à des concentrations élevées sur des cellules humaines.

Pour mieux cerner les effets de l'aspartame sur la santé humaine, il est nécessaire d'envisager à d'autres tests de génotoxicité et/ou de mutagenicité.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- Abegaz E.G., Mayhew D.A., Butchko H.H., Stargel W.W., Comer C.P. (2012). Aspartame. In: O'Brien-Nabors L editor. *Alternative Sweeteners*. 4th ed. Florida: CRC Press 58-69.
- Afssa. (2002). Rapport de l'agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments sur la question d'un éventuel lien entre exposition à l'aspartame et tumeurs du cerveau.
- Alais C. et Linden G. (1994). *Abrège biochimie alimentaire*, 3e édition Masson, paris.
- Ali A., More T. A., Shaikh Z. (2021). Artificial sweeteners and their health implications: a review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 18(2), 227-237.
- Anne-Claire N. (2019). Les édulcorants sont-ils dangereux ? <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/les-edulcorants-sont-ils-dangereux>. (Consulté le 11/02/2025).
- Anonyme. (2013). Scientific opinion on the re-evaluation of Aspartame (E 951) as à Food Additive. *EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS)*. EFSA Journal 2013, 11 (12), 3496. Parma.
- Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: Regulatory safety and epidemiological issues. Marina Marinovicha, et al. *Food and Chemical Toxicology* Volume 60, October 2013, Pages 109–115.

-B-

- Baudrimont I., Ahouandjivo R., Creppy E.E., (1997). Reduction of the ochratoxin A-induced cytotoxicity in vero cells by aspartame. *Arch. Toxicol.* 71, 290–298
- Baudrimont I., Sostaric B., Yenot C., Betbeder A.M., Dano S., Sanni A., Steyn S.P., Creppy E.E. (2001). Aspartame prevents the karyomegaly induced by ochratoxin A in rat kidney. *Arch. Toxicol.* 75, 176–183
- Belhamra Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. Thèse doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 147p.
- Bloino L. (2009). Les édulcorants de synthèse : intérêt du sucralose par rapport aux autres édulcorants existants (Doctoral dissertation).
- Bounias M., (1999). *Traité de toxicologie générale*. Springer, ed., p.804.
- Boussena M. (2022). L'impact chronique de l'aspartame administré par gavage sur les rats Wistar (Aspects biochimiques, neurocomportementaux et histopathologiques). Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba. 138p.

-C-

- Carla R., Andrighetti-Fr O., Jadel M., Regina V., Antonio B., Creczynski-Pasa R.M., Barardi and Claudia M.O. (2006). In vitro testing for genotoxicity of violacein assessed by Comet and Micronucleus assays. *Mutation Research* 603, 97–103.
- Carocho M., Morales P., Ferreira I.C. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century : A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*. 107, 302-317.
- Chenouf A. (2012). Mémoire de Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme Magister. Contrôle de la qualité microbiologique et chimique des boissons rafraichissantes sans alcool commercialisées dans la wilaya de Djelfa. Option : Contrôle de la Qualité et Analyses alimentaires. 83p.
- Clarisse M., Di Vetta V., Giusti V., (2009). Edulcorants : entre mythe et realite. *Revue médicale suisse*. 5, 682-686.
- Collins A.R. (2004). "The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations". *Mol Biotechnol*.26 (3) : 249–61.
- Cotellet S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat, P257.
- Coutin F., Mignon L. (2009). Edulcorants, aliments light ou allégés : attention aux excès, AFDN association française des diététiciens nutritionnistes, contact presse bvconseil santé.
- Creppy E.E. (2000). Preventive effects of aspartame on the genotoxic effects of ochratoxin A in vivo. In : Williams, G.M., Aruoma, O.I. (Eds.), *Molecular drug metabolism and Toxicology*. OICA International, London, UK, pp. 119–128.

-D-

- Dégremont C., Cachot J. (2009). La Génotoxicité Quel risque pour les espèces aquatiques, 36 p.
- Dhawan A., Bajpayee M., Parmar D. (2009). "Comet assay: A reliable tool for the assessment of DNA damage in different models." *Cell Biology and Toxicology* 25(1) : 5-32.
- Diezil R., Buclin T., Diezi J. (2011). *Additifs alimentaires* .22 (5) .37.

-E-

- Edwards C. H., Rossi M., Corpe C. P., Butterworth P. J., Ellis P.R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in food science & technology*, 56, 158-166.

- Efsa. (2014). [Additifs](http://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/additives.htm) <http://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/additives.htm> (consulté le 09/04/2025).
- Elatyqy M. (2005). Additifs alimentaires. Azaquar.Com.

-F-

- Fardel O., Vernhet L., Jung A.V., Legrand-Lorans A., Nouvel V. (2009). Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets. *In Journée de restitution RECORD*.
- Farooqui A.A., (2015). High Calorie Diet and the Human Brain. *Springer International Publishing Switzerland*, chapter 5, pp 133-158.
- Fredot E. (2012). Connaissance des aliments bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Editeur : Tec & Doc Lavoisier ; Édition : 3e édition. Collection : BTS diététique. 614 p.

-G-

- Gardner C., Wylie-Rosett J., Gidding S.S., et al. (2012). Nonnutritive sweeteners: Current use and health perspectives: A scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 35:1798- 808.
- Godet E., Vasseur B., Sabut M. (1993). Essais de génotoxicité in vitro et in vivo applicables à l'environnement hydrique. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 6(3), 285-314.
- Gracieli D.N., Tamara P., Haywood Dail L., Thais S., Solage-Bosio T. (2010). Antiproliferative and genotoxic effects of Mikania glomerata (Asteraceae). *Biocell* 34(3) : 95-101.

-H-

- Haighton L., Roberts A., Walters B., Lynch B. (2019). Systematic review and evaluation of aspartame carcinogenicity bioassays using quality criteria. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2019, 103, 332–344.

-I-

- Inetianbor J.E., Yakubu J.M., Ezeonu S.C. (2015). Effects of food additives and preservatives on man- a review. *Asian Journal of Science and Technology*, 6 (2), 1118 1135.

-J-

- Jain T., Grover K. (2015). Sweeteners in Human Nutrition. *International Journal of Health Sciences and Research*. 5(5), 439-451.

-K-

- Kerninon E. (2003). Utilisation du test des comètes dans l'étude des dommages sur l'ADN et de leur réparation après traitement par photochimiothérapie. Thèse de doctorat. 151 p.
- Keshav G., Harsh G., Pritika B., Aman D., Fahad K., Niraj K., Kavindra K., Pratibha P., Avanish K., Mercellena B., Anklt M., Vandana Y., Suryaoudaysinh R., Pranay T., Tarun K., Sandeep M. (2021). Unravelling the molecular mechanism of mutagenic factors impacting human health. *Environmental Science and Pollution Research*. 29 (2), 61993–62013.
- Khallef M. (2004). Évaluation de l'activité mutagène et génotoxique des eaux traitées par le chlore (station Chaiba ville d'Annaba). Mémoire de Magister en Microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar- Annaba ,86 p.
- Kroon A.G.M., Van Mulle M. (1999). Genotoxiciteit van afval water, resultaten van SOS chromo, mutotox-en Umu-c. *Aquasense rapport nr. 99.1337*.

-L-

- Lansing M., Prescott J.P., Harley., Donald A., Klein. (2003). Microbiologie. Ed 2eme, 1137 p.
- Laura Custer., Ann Doherty., Ray Proudlock. (2016). The In Vivo Rodent Micronucleus Assay. in:Ray Proudlock,Genetic Toxicology Testing A Laboratory Manual, 1, Academic Press.
- Liman R. (2013). Genotoxic effects of Bismuth (III) oxide nanoparticles by Allium and Comet assay. *Chemosphere* 93, 269–273.
- Linden G., Lorient D. (1994). Biochimie agroalimentaire, Milan Barcelone ED Masson.

-M-

- Marinovich M., Galli C.L., Bosetti C., et al. (2013). Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: regulatory safety and epidemiological issues. *Food ChemToxicol*. 60 :109 115.
- Maron D.M., Ames B.N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173-215.
- Mateuca R., Lombaert N., Aka P.V., Decordier I., Kirsch-Volders M. (2006). Chromosomal changes : induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88, 1515-1531.

- Meek M.E., Bucher J.R., Cohen S.M., Dellarco V., Hill R.N., Lehman-McKeeman L.D., Patton D.E. (2003). A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic modes of action. *Critical reviews in toxicology*, 33(6), 591-653.
- Meyer A., Deiana D., Benard A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Ed. DOIN France, 423 p.
- Moll N., Moll M. Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques. *Chimie et santé*. Masson. (1990). Pp 99-100-101-102.
- Moriniaux V. (2014). Les édulcorants : une autre histoire du sucré, une nouvelle étape dans l'histoire du sucre.
- Mortelmans K., Zeiger E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 445, 29–60.
- Msagati T.A.M. (2013). Chemistry of Food Additives and Preservatives. 1st Ed., John Wiley & Sons, Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester.

-N-

- Ngassa Ndeukou M. L. (2014). L'aspartame, Un Edulcorant Sans Danger ? Revue De La Litterature Sur Les Risques Lies A Son Utilisation. Thèse doctorat. Universite Du Droit Et De La Sante - Lille 2. 43p.

-O-

- Oyama Y.S. (2002). Cytotoxic effects of methanol, formaldehyde and formate on dissociated.

-P-

- Pereira M.A. (2013). Diet beverages and the risk of obesity, diabetes, and cardiovascular disease A review of the evidence. *Nutr Rev.* 71:433-40.
- Pillco Araceli., Eduardo de la Peña. (2014). Genotoxicity Assays. In : Le Marhic Aa Sierra et Isabel Gaivão, 2014, Genotoxicity and DNA Repair A Practical Approach, Humana, New York.
- Priya, K., Gupta, V. R. M., Srikanth, K. (2011). Natural sweeteners: A complete review. *Journal of Pharmacy Research*, 4(7), 2034-2039.

-Q-

- Quillardet P., Hofnung M. (1985). SOS chromotest test global / E. coli PQ37. *Mutat. Res*, 147 : 65-78p.

-R-

- Rangan C., Barceloux D.G. (2009). Food additives and sensitivities. *Dis Mon.* 55 :292-311.
- Rank J., Nielsen M.H. (1997). Allium cepa anaphase telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutation Research*, 390 : 121-127.
- Rencüzoğulları E., Tüylü B.A., Topaktaş M., İla H.B., Kayraldız A., Arslan M., Diler S.B. (2004). Genotoxicity of aspartame. *Drug and chemical toxicology*, 27(3), 257-268.

-S-

- Saks M., Sabita U., Rajendra S.V., Raman Dang. (2017). Genotoxicity : Mechanisms, Testing Guidelines and Methods, *Glob J Pharmaceu Sci* ; 1(5).
- Salminen S., Hallikainen M. (2001). Sweeteners ; in : « Food Additives » ed. Food Science and Technology, 2nd ed., Taylor and Francis, New York.
- Sardesai V. M., Waldsham T. H. (1991). Natural and synthetic intense sweeteners. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2(5), 236-244.
- Schernhammer E.S., Bertrand K.A., Birmann B.M., Sampson L., Willett W.C., Feskanich D. (2012). Consumption of artificial sweetener—and sugar-containing soda and risk of lymphoma and leukemia in men and women. *Am J of Clin Nutr*. 2012 ; 96 :1419–28.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.111.030833> PMID : 23097267
- Schmid W. (1975). The Micronucleus Test. *Mutation Research*, 31, 9-15.
- Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive¹ EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS).
- Sério L. (2010). La Stévia rebaudiana, une alternative au sucre. *Phytothérapie* N°8. France. P 26- 32.
- Serra-Majem L., Raposo A., Aranceta-Bartrina J., Varela-Moreiras G., Logue C., Laviada H., Socolovsky S., Pérez-Rodrigo C., Aldrete-Velasco J.A., Meneses Sierra E., et al. (2018). Ibero–American Consensus on Low- and No-Calorie Sweeteners: Safety, Nutritional Aspects and Benefits in Food and Beverages. *Nutrients* 2018, 10, 818.
- Shankar P., Ahuja S., SRIRAM K. (2013). Non-nutritive sweeteners: review and update. *Nutrition*, 29 (11-12), 1293- 1309.

-T-

- Thybaud V., Aardema M., Clements J., Dearfield K., Galloway S., Hayashi M., Ohyama W. (2007). Strategy for genotoxicity testing: hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 627(1), 41-58.

-V-

- Vasseur P. (1994). Evaluation de la génotoxicité de l'effluente étude comparative des tests d'Ames et micronoyaux triton, document réalisé sous la direction des agences de l'eau et du ministère de l'environnement. Ed. France, 184 p.
- Vences-Mejia A., Labra-Ruiz N., Hernandez-Martinez N., Dorado-Gonzalez V., Gomez-Garduno J., Perez-Lopez I., Nosti-Palacios R., Camacho Carranza R., Espinosa-Aguirre J.J. (2006). The effect of aspartame on rat brain xenobiotic-metabolizing enzymes. *Hum. Exp. Toxicol.* 25 :453-459.

-W-

- Wagner V. (2012). De Steviarebaudiana à la Stévia : Parcours chaotique de 19 « herbe sucrée » parmi les édulcorants. Thèse de doctorat, université de Lorraine. 142p.
- Webb M.C., Chong D., Bawa S. (2020). Consumption patterns of nonnutritive sweeteners among university students at a Caribbean institution. *J. Am. Coll. Health*, 1 Whitehouse C.R., Boullata J., McCauley L. A. (2008). The potential toxicity of artificial sweeteners. *Aaohn Journal*, 56(6), 251-261.

-Z-

- Zeiger Errol. (2013). Gene Mutation Assays. In : Dhawan, A., & Bajpayee, M, 2013, Genotoxicity Assessment Methods and Protocols, Humana, New York.
- Zyglér A., Wasik A., Namieśnik J. (2009). Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in food stuffs. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(9), 1082-110.

Sites internet

[1] <https://www.lanutrition.fr/bien-dans-son-assiette/bien-manger/risques/les-additifs-alimentaires/les-edulcorants/petite-histoire-des-edulcorants>

Consulté le 08/02/2025

[2] https://www.sweeteners.org/wp-content/uploads/2020/11/isa_booklet_september_2018_fr.pdf

Consulté le 29/01/2025

[3] https://www.revmed.ch/view/558672/4463868/RMS_idPAS_D_ISBN_pu2009-12s_sa07_art07.pdf

Consulté le 30/01/2025

[4] https://www.realites-cardiologiques.com/wp-content/uploads/sites/2/2012/10/RND41_RG-Amouyal.pdf

Consulté le 30/01/2025.

[5] <https://foodcom.pl/fr/le-sucre-et-les-edulcorants-dans-lindustrie-alimentaire/>

Consulté le 04/05/2025

[6] https://sante.gouv.fr/sante-et-environnement/denrees-alimentaires/article/aspartame?fbclid=IwY2xjawJ7RSllcHRuA2FlbQIxMABicmlkETFEbDNzdE1ZS1ZTMWd6ZWFGAR5ot9Dtk4eypCz0uifWd1g6SV2o-B5FgJdHQBuThxsLR9-dlSzPTpvD414TPQ_aem_DHcG7xl59IAYLJEXD1_Xbw

Consulté le 29/04/2025

[7] **Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive**
EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS)

Consulté le 13/02/2025

[8] <https://blog.biobide.com/exploring-the-nuances-genotoxicity-vs.-mutagenicity#:~:text=Defining%20Genotoxicity%20and%20Mutagenicity,damage%20to%20this%20genetic%20material.>

Consulté le 07/05/2025

[9] <http://www.ssents.uvsq.fr/spip.php?article2097&lang=fr>

Master Environnement et Santé

Consulté le 07/05/2025

[10] <https://www.vigilanceportdequebec.com/2012/12/23/le-nickel-une-substance-cancerogene-pour-lhomme/#:~:text=Selon%20le%20Centre%20international%20de,/%20%E2%80%93%20disp onible%20en%20anglais%20seulement>

Le nickel: une substance cancérigène pour l'homme. - Initiative citoyenne de vigilance du Port de Québec

Consulté le 25/03/2025

[11] Test de mutagenèse. Disponible sur : <http://www.toxem.com/articles/listing.php>

Consultée le 03/05/2025

[12] Bases conceptuelles de tests de mutagenèse ou de génotoxicité. Disponible sur : http://www.biomedicale.univparis5.fr/enseignement/toxico/M2THERV_2013_2014/documents/C5/PR%20SALLES%20-%20ESSAIS%20GENOTOX.pdf

Consulté le 06/05/2025

Résumé

L'aspartame (E 951) fait partie des additifs alimentaires dont les bénéfices pour la ligne sont bien connus. Faible en calories, il possède un pouvoir sucrant environ 200 fois supérieur à celui du sucre. Et que l'on trouve généralement dans les édulcorants de table, et sa consommation augmente de jour en jour, ce qui appelle à des études plus approfondies en termes de sécurité de sa consommation, notamment à long terme.

Des recherches scientifiques ont révélé plusieurs effets néfastes de l'aspartame sur la santé, tels qu'un risque potentiel de cancer, ainsi qu'un impact défavorable sur le cerveau et le système immunitaire.

Le but de cette étude était d'évaluer le potentiel mutagène et génotoxique de l'aspartame. Appliqué à trois doses (100 mg/l, 200 mg/l, 400 mg/l) en utilisant le test d'Ames. Testé sur des souches de *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100, ont démontré que l'aspartame induit de mutations génétiques dans l'ADN bactérien, indiquant un pouvoir mutagène.

Mots clés : L'aspartame, mutagène, génotoxique, Ames.

Abstract

Aspartame (E951) is one of the food additives whose benefits for weight control are well known. Low in calories, it has a sweetening power approximately 200 times greater than that of sugar. It is commonly found in table sweeteners, and its consumption is increasing day by day, which calls for more in-depth studies regarding the safety of its use, especially in the long term.

Scientific research has revealed several harmful effects of aspartame on health, such as a potential cancer risk, as well as adverse impacts on the brain and the immune system.

The aim of this study was to evaluate the mutagenic and genotoxic potential of aspartame. It was applied at three concentrations (100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L) using the Ames test. When tested on *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100, aspartame was shown to induce genetic mutations in bacterial DNA, indicating mutagenic potential.

Keywords : Aspartame, mutagenic, genotoxic, Ames.

المخلص

يُعد الأسبارتام (E951) أحد الإضافات الغذائية المعروفة بفوائدها في التحكم في الوزن. فهو منخفض السعرات الحرارية ويملك قدرة تحليلية تفوق السكر بحوالي 200 مرة. ويوجد عادة في المحليات الصناعية المخصصة للاستخدام المنزلي، ويزداد استهلاكه يوماً بعد يوم، مما يستدعي إجراء دراسات أكثر تعمقاً بشأن سلامة استخدامه، خاصة على المدى الطويل. وقد كشفت الأبحاث العلمية عن عدة آثار ضارة للأسبارتام على الصحة، مثل احتمال تسببه في الإصابة بالسرطان، بالإضافة إلى تأثيرات سلبية على الدماغ والجهاز المناعي.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المحتملة للأسبارتام على إحداث طفرات وراثية وتأثيرات سامة على المادة الوراثية. تم استخدامه بتركيزات ثلاث (100 ملغ/لتر، 200 ملغ/لتر، 400 ملغ/لتر) باستخدام اختبار "آمس". وعند اختباره على سلالات *Salmonella typhimurium* TA98 و TA100، أظهر الأسبارتام أنه يُحدث طفرات جينية في الحمض النووي البكتيري، مما يشير إلى وجود قدرة طافرة جينية.

الكلمات المفتاحية : الأسبارتام، مطفر، سام وراثيًا، اختبار آمس.