

# Umjetni zaslađivači- primjena i rizici za ljudsko zdravlje

---

Mihaljević, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:249064>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-14**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Matea Mihaljević**

7625/N

**UMJETNI ZASLAĐIVAČI - primjena i rizici za ljudsko zdravlje**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Osnove toksikologije

**Mentor:** doc. dr. sc. Teuta Murati

**Zagreb, 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam**  
**Zavod za kemiju i biokemiju**  
**Laboratorij za toksikologiju**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Nutricionizam**

### **UMJETNI ZASLAĐIVAČI - primjena i rizici za ljudsko zdravlje**

***Matea Mihaljević, 0058210177***

**Sažetak:** Umjetni zaslađivači su aditivi u hrani koji oponašaju efekt stolnog šećera i „varaju“ okusne pupoljke. Organizam ih može samo djelomično ili ih uopće ne može metabolizirati te je zato njihova kalorijska vrijednost vrlo mala ili jednaka nuli. U najširoj primjeni koriste se aspartam, saharin, sukraloza, acesulfam K i ciklambat, koji su izdvojeni i u ovom radu. Svakom zaslađivaču određena je ADI (engl. *acceptable daily intake*) vrijednost koja označava količinu koja se svakodnevno može unositi u organizam bez zdravstvenog rizika. Obzirom da je trenutni globalni trend povećanje unosa umjetnih zaslađivača zbog izostanka kalorijske vrijednosti, iznimno su važna daljnja istraživanja njihovih učinaka na zdravlje. Dosadašnja istraživanja pokazala su da zaslađivači mogu dovesti do promjena u sastavu mikrobioma i negativno djelovati na kognitivne funkcije te da saharin ima učinak na tjelesnu masu. Međutim, istraživanja u Europi na razini opće populacije pokazuju da nema potrebe za zabrinutošću zbog prekomjerne konzumacije umjetnih zaslađivača.

**Ključne riječi:** acesulfam K, aspartam, ciklambat, saharin, sukraloza, zdravstveni rizik

**Rad sadrži:** 27 stranica, 5 slika, 55 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** doc. dr. sc. Teuta Murati

**Pomoć pri izradi:** izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetič; Marina Miletić, mag. ing.

**Datum obrane:** 1. rujna 2020.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Nutrition**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory for Toxicology**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Nutrition**

### **ARTIFICIAL SWEETENERS - application and risks to human health**

***Matea Mihaljević, 0058210177***

**Summary:** Artificial sweeteners are food additives that mimic the effect of table sugar and "cheat" the taste buds. The organism can only partially metabolize or even can't metabolize them, so their caloric value is very small or equal to zero. Aspartame, saccharin, sucralose, acesulfame K and cyclamate are mostly used. Each sweetener is assigned an ADI (acceptable daily intake) value, which indicates the amount that can be taken into the body every day without health risks. Current global trend is an increase in the artificial sweeteners intake due to the lack of caloric value, so further research of their health effects is extremely important. Previous research has shown that sweeteners can lead to the microbiome composition changes and have a negative effect on cognitive functions, and that saccharin can affect a body weight. However, research in Europe at the general population level shows that there is no need for concern because of the excessive consumption of artificial sweeteners.

**Keywords:** acesulfame K, aspartame, cyclamate, health risk, saccharin, sucralose

**Thesis contains:** 27 pages, 5 figures, 55 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD. Teuta Murati, Assistant Professor

**Technical support and assistance:** PhD. Ivana Kmetič, Associate Professor; MSc. Marina Miletić, Scientific Assistant

**Defence date:** September 1<sup>st</sup> 2020

## Sadržaj:

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. ASPARTAM (E951)</b> .....	<b>3</b>
2.1.1. Povijest primjene aspartama .....	3
2.1.2. Metabolizam aspartama .....	4
2.1.3. Rizici primjene aspartama za ljudsko zdravlje.....	4
<b>2.2. SAHARIN (E954)</b> .....	<b>5</b>
2.2.1. Povijest primjene saharina .....	6
2.2.2. Metabolizam saharina .....	6
2.2.3. Rizici primjene saharina za ljudsko zdravlje.....	7
<b>2.3. ACESULFAM K (E950)</b> .....	<b>8</b>
2.3.1. Povijest primjene acesulfama K .....	8
2.3.2. Metabolizam acesulfama K .....	9
2.3.3. Rizici primjene acesulfama K za ljudsko zdravlje.....	9
<b>2.4. CIKLAMAT (E952)</b> .....	<b>9</b>
2.4.1. Povijest primjene ciklamata .....	10
2.4.2. Metabolizam ciklamata.....	11
2.4.3. Rizici primjene ciklamata za ljudsko zdravlje .....	11
<b>2.5. SUKRALOZA (E955)</b> .....	<b>12</b>
2.5.1. Povijest primjene sukraloze .....	13
2.5.2. Metabolizam sukraloze .....	13
2.5.3. Rizici primjene sukraloze za ljudsko zdravlje .....	13
<b>2.6. RIZICI PRIMJENE UMJETNIH ZASLAĐIVAČA ZA LJUDSKO ZDRAVLJE</b> .....	<b>13</b>
2.6.1. Utjecaj umjetnih zaslađivača na apetit i debljinu.....	14
2.6.2. Interakcija mikrobioma s umjetnim zaslađivačima.....	16
2.6.3. Utjecaj umjetnih zaslađivača na kognitivne funkcije mozga.....	19
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>21</b>

<b>4. LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
---------------------------	-----------

## 1. UVOD

Preveliki unos stolnog šećera tj. saharoze uzrokuje cijeli niz zdravstvenih problema poput pretilosti, kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa. Prevalencija pretilosti gotovo svakodnevno raste na globalnoj razini, zbog čega su niskokalorični zaslađivači vrlo brzo postali popularna zamjena za šećer. Umjetni zaslađivači omogućuju raznim proizvodima da zadrže svoj originalni okus bez dodatnih kalorija, stvarajući percepciju "zdravijeg" proizvoda kod potrošača. U sve široj primjeni nalaze se umjetni zaslađivači koji „varaju“ okusne pupoljke slatkim okusom, a koje organizam može samo djelomično ili uopće ne može metabolizirati. Zato je kalorijska vrijednost takvih proizvoda izrazito mala ili je jednaka nuli (Toews i sur., 2019).

Pet najčešćih, odnosno najšire korištenih umjetnih zaslađivača, koji su izdvojeni i u ovom radu su aspartam, saharin, sukraloza, acesulfam K i ciklambat. Umjetni zaslađivači odobreni su za ljudsku prehranu od strane regulatornih agencija diljem svijeta te se koriste u sve većim razmjerima. Za svaki aditiv u hrani, pa tako i za umjetne zaslađivače određena je preporučena dnevna ADI (engl. *acceptable daily intake*) vrijednost koja označava količinu aditiva u hrani, izraženu na osnovi tjelesne mase koja se može svakodnevno unositi tijekom života bez značajnog zdravstvenog rizika (Mortensen, 2006). Rizici koje mogu prouzročiti umjetni zaslađivači na koje se u prošlosti sumnjalo su citotoksičnost, genotoksičnost i kancerogenost (Otabe i sur., 2019). Danas je poznato da unosom sigurnih dnevnih količina umjetnih zaslađivača ne postoje navedeni zdravstveni rizici, ali novija istraživanja ukazuju da umjetni zaslađivači potencijalno djeluju upravo suprotno od svoje namjene - potiču povećanje tjelesne mase, povećavaju rizik od kardiovaskularnih bolesti te uzrokuju inzulinsku rezistenciju (Toews i sur., 2019).

Svaki umjetni zaslađivač ima jedinstvenu kemijsku strukturu koja pobuđuje različita osjetila, utječe na mikrobiom, metabolizam i tjelesnu masu pojedinca, a također može različito utjecati na mozak (Uebanso i sur., 2017). Cilj ovoga rada je istražiti postoji li povezanost između unosa umjetnih zaslađivača i negativnog učinka na zdravlje ljudi.

## 2. TEORIJSKI DIO

Zaslađivači su aditivi u hrani koji oponašaju efekt stolnog šećera. Stoga se nazivaju zamjenama za šećer. Umjetni se zaslađivači vežu na iste receptore na okusnim pupoljcima kao i šećer, te na taj način uspješno oponašaju osjet slatkoga. Nije jednostavno zamijeniti stolni šećer, jer su iznimno bitna fizikalna i kemijska svojstva poput kvalitete, intenziteta slatkoće i ostalih karakteristika koje moraju što vjernije oponašati saharozu (Chattopadhyay i sur., 2014).

Danas su umjetni zaslađivači sveprisutni i nalaze se u širokom rasponu namirnica. Zdravstvena ispravnost umjetnih zaslađivača je godinama bila upitna, ali danas su prema organizacijama poput U. S. FDA (engl. *United States Food and Drug Administration*) i EFSA (engl. *European Food Safety Authority*) označeni kao potpuno sigurni. S druge strane, prema mnogim novijim istraživanjima metaboliti tih zaslađivača imaju upitan učinak na zdravlje i metabolizam (Chattopadhyay i sur., 2014).

Postavlja se pitanje u kojim količinama opća populacija konzumira umjetne zaslađivače te prelazi li ona preporučene ADI vrijednosti. Iznimno je bitno obratiti pažnju na unesenu količinu, jer kronični efekt na zdravlje, pogotovo kod djece, još nije dovoljno istražen.

Mattes i Popkin (2009) su prvi dokumentirali porast konzumacije nisko-kaloričnih zaslađivača kod američke populacije između 1989. i 2004. godine. Prevalencija konzumacije između 1999. i 2008. godine porasla je s 26,9% na 32% kod odraslih i s 8,7% na 14,9% kod djece. Ispitana je korelacija socio-demografskih varijabli s konzumacijom umjetnih zaslađivača između 1999. i 2008. godine te je utvrđen najviši unos kod osoba višeg socio-ekonomskog statusa, posebno kod žena i osoba s prekomjernom tjelesnom masom (Drenowski i Rehm, 2015).

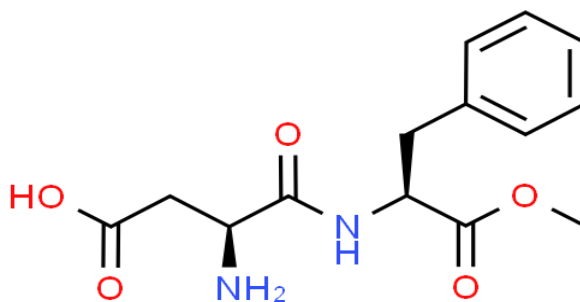
Prema NHANES-u (engl. *The National Health and Nutrition Examination Survey*) rezultati istraživanja iz 2012. godine demonstriraju da 25% djece i više od 41% odraslih u SAD-u konzumiraju umjetne zaslađivače. Radi se o skoku od 200% za djecu i 54% za odrasle od 1999. godine. Vidljivo povećanje unosa je očekivano jer se umjetni zaslađivači nalaze u cijelom nizu proizvoda poput kruha, žitarica, sladoleda, „light“ mliječnih proizvoda. Prisutnost umjetnih zaslađivača u sve većem broju proizvoda uzrokuje i sve češću konzumaciju, ali vrlo često bez znanja potrošača. Prema rezultatima iz 2012. godine gotovo četvrtina djece, odnosno adolescenata i gotovo polovina odraslih u SAD-u konzumiraju svakodnevno barem jedan proizvod koji sadrži umjetne zaslađivače. Ova saznanja pokazuju potrebu za intenzivnijim istraživanjima, tj. studijama koje ispituju kronični utjecaj umjetnih zaslađivača na zdravlje, pogotovo kod djece (Sylvetsky i sur., 2017).



Kod opće, zdrave populacije svih dobnih skupina rezultati istraživanja u Europi ne pokazuju potrebu za zabrinutošću zbog prekomjerne konzumacije umjetnih zaslađivača. Najnovija istraživanja čak pokazuju da dolazi do blagog pada konzumacije u različitim zemljama Europe, ali postoje značajne razlike u dizajnu provedenih studija te ih je vrlo teško usporediti. Jedina skupina za koju je utvrđen veći unos acesulfama K i ciklamata od preporučene ADI vrijednosti su djeca s posebnim prehrambenim potrebama. Prekoračenjem ADI vrijednosti tijekom kraćeg perioda života ne dolazi do razvijanja zdravstvenih problema, naročito u slučaju umjetnih zaslađivača jer imaju iznimno nisku akutnu toksičnost. U Aziji i Južnoj Americi nisu zabilježeni zabrinjavajući podaci o prekoračenju preporučenih količina (Danika, 2018).

## 2.1. ASPARTAM (E951)

Aspartam ili *N*-L- $\alpha$ -aspartil-L-fenilalanin-1-metil ester je dipeptid L-fenilalanin metil estera i L-asparaginske kiseline koji ima amino skupinu na  $\alpha$ -položaju (Slika 1). Molekulska formula aspartama je  $C_{14}H_{18}N_2O_5$ , a molarna masa iznosi  $294,31 \text{ g mol}^{-1}$ . Postoje dva oblika aspartama – alfa i beta. Kada se govori o aspartamu gotovo se uvijek misli na alfa oblik jer je on sladak, dok beta oblik nema izraženu slatkoću (Magnuson i sur., 2007).



Slika 1. Struktura aspartama – *N*-L- $\alpha$ -aspartil-L-fenilalanin-1-metil ester (ChemSpider, 2020a)

Aspartam je sintetički, nenutritivni zaslađivač koji ima strukturu bijelog kristaliničnog praha bez mirisa, ali vrlo slatkoga okusa – otprilike 200 puta je slađi od saharoze. Ima kalorijsku vrijednost  $4 \text{ kcal g}^{-1}$  što je jednako kao i šećer, ali zbog iznimno visoke slatkoće u hrani se koristi u malim koncentracijama (Magnuson i sur., 2007).

Aspartam se na tržištu može pronaći pod imenima Nutrasweet®, Equal® i Sugar Twin® (FDA, 2018).

### 2.1.1. Povijest primjene aspartama

James Schlatter je slučajno otkrio aspartam 1965. godine dok je radio na sintezi tetrapeptida kao inhibitora gastrina. Tijekom eksperimenta kristalizirao se međuprodukt

aspartilfenilalaninmetil ester. Nakon što mu se dio otopine prolio po ruci, Shlatter je polizao prste te otkrio da je otopina bila izrazito slatkog okusa (Mazur, 1984).

U. S. FDA je aspartam odobrila za korištenje 1981. godine, ali samo pod točno definiranim uvjetima (u žvakaćim gumama, žitaricama i suhim bazama za određenu hranu, napitcima kao što su instant kava i čaj). Primjena aspartama 1983. godine odobrena je u bezalkoholnim pićima, dok je 1996. godine aspartam odobren kao zaslađivač u velikom broju proizvoda (FDA, 2018).

### **2.1.2. Metabolizam aspartama**

Napravljen je cijeli niz istraživanja apsorpcije i metabolizma aspartama u glodavaca, svinja, primata i ljudi. Kod svih ispitanih vrsta aspartam se metabolizira u gastrointestinalnom traktu pomoću esteraza i peptidaza u tri komponente: fenilalanin, asparaginsku kiselinu i metanol u omjeru 50:40:10. Te tri komponente su prirodno prisutne i u hrani poput mlijeka, voća i povrća te ih populacija unosi u puno većim koncentracijama putem tih namirnica, nego iz onih koje sadrže aspartam (Butchko i Stargel, 2001).

Aspartam može ući u organizam na tri načina. Prvi od načina je da se u potpunosti hidrolizira na tri komponente (fenilalanin, asparaginska kiselina i metanol) koje se onda zasebno apsorbiraju u gastrointestinalnom traktu i na taj način ulaze u cirkulaciju. Drugi način je da se aspartam najprije dijeli na dvije komponente, metanol i aspartilfenilalanin dipeptid, koje se apsorbiraju u gastrointestinalnim mukoznim stanicama. U mukoznim stanicama tada dolazi do cijepanja na aminokiseline (Stegink, 1987). Treći način je apsorpcija aspartama u mukozne stanice u kojima dolazi do cijepanja na tri komponente (Matthews, 1984).

### **2.1.3. Rizici primjene aspartama za ljudsko zdravlje**

SCF (engl. *Scientific Committee on Food*) je prvi puta izrazio svoje mišljenje o aspartamu 1984. godine kada je utemeljena ADI vrijednost od  $40 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ , a 1988. godine izrazio je zabrinutost zbog visoke doze fenilalanina u krvi prilikom konzumacije aspartama te mogućí neurotoksični učinak i poremećaje ponašanja (Mortensen, 2006). EFSA je provela dugoročnu studiju o mogućoj kancerogenosti aspartama zajedno s ERF (engl. *European Ramazzini Foundation of Oncology in Environmental Sciences*) na zahtjev Europske komisije. Utvrdili su da nije potrebno mijenjati prvotno postavljenu ADI vrijednost (Mortensen, 2006). Primjena aspartama je dozvoljena u cijelom nizu prehrambenih proizvoda kao što su deserti, jogurti sladoledi, marmelade. Dozvoljena količina varira između 350 do  $2000 \text{ mg kg}^{-1}$  ovisno o kategoriji hrane (Mortensen, 2006).

Kako bi se postigla ADI vrijednost aspartama potrebno je pojesti 1 kg slatkiša koji sadržavaju 2000 mg kg<sup>-1</sup> aspartama ili popiti 4 litre soka koji sadržavaju 600 mg L<sup>-1</sup> aspartama. Hrana i pića koja sadrže aspartam moraju imati naljepnicu na kojoj piše da proizvod sadrži fenilalanin jer se osobe oboljele od fenilketonurije moraju strogo pridržavati prehrane bez fenilalanina. Kod tih osoba unos i najmanje količine može dovesti do opasno visoke razine fenilalanina u krvi. Fenilalanin se u zdravih ljudi normalno pretvara u tirozin te se odstranjuje iz tijela. Bez enzima koji ga pretvara u tirozin koncentracija fenilalanina se u serumu povećava, a budući da djeluje neurotoksično, može uzrokovati mentalnu retardaciju (Mortensen, 2006).

Podaci o apsorpciji i toksikokinetici koji uspoređuju učinke aspartama kod ljudi i životinja u potpuno istim dozama nisu dostupni. Međutim, bitno je napomenuti da životinje reagiraju na metabolite aspartama i/ili aspartam brže nego ljudi. Vrlo složena ekstrapolacija podataka iz studija na životinjama jedno je od kritičnih ograničenja korištenja tih podataka (Choudhary i Pretorius, 2017).

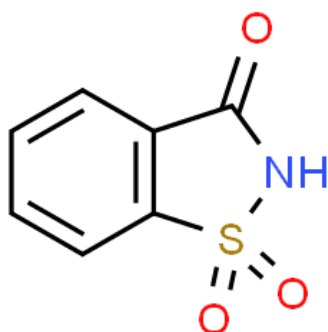
Usprkos navedenom, posljednja zdravstvena istraživanja aspartama temeljena su najčešće na životinjama. Studije sugeriraju da aspartam čak i u preporučenim dozama nije siguran. Istraživanja pokazuju da konzumacija aspartama uzrokuje neravnotežu antioksidanasa, inducira oksidacijski stres i oštećuje integritet membrane. Aspartam izravno sudjeluje u razvoju oksidacijskog stresa, što je znak sistemske upale. Nekoliko istraživanja dokazuju štetan utjecaj izloženosti aspartama na tjelesnu masu i inzulinsku rezistenciju. Iznimno je bitno donijeti valjani zaključak utjecaja aspartama na navedene mehanizme, jer su glavni potrošači upravo dijabetičari i osobe s prekomjernom tjelesnom masom. To je od posebnog značaja, jer dijabetičari i drugi pojedinci s disbiozom u crijevima već mogu biti izloženi povećanom riziku od sistavne upale zbog prirode svojih bolesti (Choudhary i Pretorius, 2017).

S druge strane, značajno manji broj istraživanja koji je proveden na ljudima nije pokazao negativne učinke aspartama, tj. u dozvoljenim koncentracijama nije dokazan toksični učinak te je siguran za konzumaciju (Magnuson i sur., 2016).

Danas ADI vrijednost prema EFSA-i iznosi 40 mg kg<sup>-1</sup> t.m. dan<sup>-1</sup>, dok FDA prepisuje ADI vrijednost od 50 mg kg<sup>-1</sup> t.m. dan<sup>-1</sup> (FDA, 2018; EFSA, 2019).

## **2.2. SAHARIN (E954)**

Saharin je kemijski spoj benzosulfimid koji nema energetske vrijednosti. Kemijska formula je C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>3</sub>S, a molarna masa iznosi 183,18 g mol<sup>-1</sup> (Slika 2).



Slika 2. Kemijska struktura saharina (ChemSpider, 2020b)

Saharin je 200 do 500 puta slađi od stolnog šećera ovisno o koncentraciji i mediju u kojem se nalazi. Ima metalni, gorak okus te se zato često miješa s ostalim umjetnim zaslađivačima. Postoje tri glavna oblika koja se koriste: natrijev saharin, kalcijev saharin i saharin kiselina. Natrijev saharin je najraširenija sol, zbog vrlo dobre topljivosti. Točka vrelišta saharina je 228,8 - 229,8 °C, dok se soli razlažu na temperaturama višim od 300 °C. Odlična stabilnost saharina omogućuje njegovu primjenu i u hrani koja zahtijeva toplinsku obradu (Pearson, 2001). U komercijalnoj prodaji saharin se nalazi pod nazivima Sweet and Low<sup>®</sup>, Sweet Twin<sup>®</sup>, Sweet'N Low<sup>®</sup> i Necta Sweet<sup>®</sup> (FDA, 2018).

### 2.2.1. Povijest primjene saharina

Saharin se koristi u svrhu zaslađivača više od 100 godina te je prvo kemijski sintetizirano sladilo. Otkriven je slučajno od strane znanstvenika Ire Remsena na John Hopkins sveučilištu 1879. godine. Remsen je istraživao oksidaciju *o*-toluen sulfonoamida. Tijekom večere je uočio izrazito sladak okus kruha te je nazvao novootkrivenu supstancu saharin. Počeo se proizvoditi za komercijalne svrhe 1894. godine u Njemačkoj, a 1901. godine prihvaćen je i u SAD-u. Saharin se najprije počeo koristiti kao zaslađivač konzerviranog voća i povrća (Oser, 1985).

Uvođenjem novih sladila, smanjila se njegova primjena, ali još je značajna njegova upotreba u proizvodnji lijekova, kozmetike i pasta za zube (Pearson, 2001).

### 2.2.2. Metabolizam saharina

Saharin se ne metabolizira u ljudskom organizmu te se nepromijenjen izlučuje urinom i u manjoj količini fecesom. Nekoliko je studija pokušalo dokazati metaboličke puteve pomoću modernih analitičkih tehnika, ali niti jedan test nije dokazao biotransformaciju saharina kod životinja i ljudi (Sweetman i Renwick, 1980).

### 2.2.3. Rizici primjene saharina za ljudsko zdravlje

Saharin je prvi put procijenjen od strane SCF-a 1977. godine kada je određena privremena ADI vrijednost od  $2,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ . Ranih 1970-ih saharin je povezan s razvojem raka mjehura kod štakora. Donesena je odluka da se na etiketi proizvoda koji sadrže saharin mora naznačiti njegovo potencijalno kancerogeno djelovanje. Mnogobrojna istraživanja na ljudima tijekom slijedećih godina dokazala su da se istraživanja na miševima ne mogu ekstrapolirati na ljude te je utvrđeno da je saharin siguran za konzumaciju. SCF je 1995. godine potvrdio ADI vrijednost koja je iznosila  $5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ , dok je NTP (engl. *National Toxicology Program*) 2000. godine donio odluku da saharin treba biti uklonjen s liste potencijalnih kancerogenih tvari. Danas je saharin dozvoljen u cijelom nizu proizvoda poput napitaka, deserata, jogurta (Mortensen, 2006).

Dozvoljene količine u proizvodima variraju između  $100 - 500 \text{ mg kg}^{-1}$  ovisno o kategoriji hrane. Kako bi se prekoračila ADI vrijednost bilo bi potrebno konzumirati 0,5 kilograma slatkiša koji sadrže  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  saharina ili 3,5 litre soka koji sadrže  $500 \text{ mg L}^{-1}$  saharina (Mortensen, 2006).

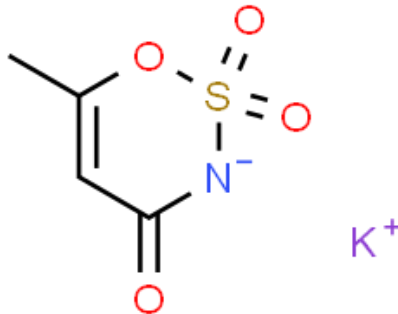
Novija istraživanja ipak su zabilježila negativne učinke konzumacije saharina. Azeez i suradnici (2019) proučavali su štetne učinke primjene saharina na biokemijske promjene u krvi i tkivima štakora koji su primali različite doze natrijeva saharina tijekom 120 dana. Studija je zabilježila veću pojavnost rasta tjelesne mase tijekom konzumiranja saharina. Smatra se da do porasta tjelesne mase dolazi zbog pojave intolerancije na glukozu.

Prema rezultatima, dugotrajno konzumiranje saharina može uzrokovati oštećenja bubrega zbog značajnog povišenja razine kreatinina u krvi u svim ispitanim dozama ( $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  i  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu. Taj bi rezultat mogao biti posljedica poremećaja bubrežnih funkcija što vodi do smanjenja stope glomerularne filtracije praćene retencijom uree i kreatinina u krvi. Zabilježen je i učinak konzumacije saharina na lipidni profil. Koncentracije TC (engl. *total cholesterol*), TG (engl. *triglycerides*) i LDL (engl. *low density lipoprotein*) i HDL (engl. *high density lipoprotein*) kolesterola smanjene su kao odgovor na unos saharina već pri oralnim dozama od  $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$  (Azeez i sur., 2019).

Danas ADI vrijednost prema FDA iznosi  $15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ , dok prema EFSA-i iznosi  $5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$  (FDA, 2018; EFSA, 2019).

### 2.3. ACESULFAM K (E950)

Acesulfam K je bijeli kristalinični prah kemijske formule  $C_4H_4KNO_4S$  te molarne mase  $201,24 \text{ g mol}^{-1}$  (Slika 3).



Slika 3. Kemijska struktura acesulfama K (ChemSpider, 2020c)

200 je puta slađi od saharoze. Smatra se da je približno jednako sladak kao aspartam, četiri do pet puta slađi od natrijevog ciklamata i upola manje sladak od saharina. Slatkoća acesulfama K vrlo se brzo očituje te ne ostavlja gorak okus u ustima. Na sobnoj temperaturi se odlično otapa u vodi, a topljivost je proporcionalna s porastom temperature. Za razliku od vode, slabije se otapa u alkoholu. Acesulfam K pokazuje visoku stabilnost pri različitim vrijednostima pH i temperature. Prilikom iznimno visokih temperatura sterilizacije ne dolazi do promjena u strukturi, a nisu zabilježene promjene čak ni pri skladištenju dugom 10 godina. Upravo zbog iznimne stabilnosti, acesulfam K se nalazi u cijelom nizu proizvoda. Pročišćava se prekrizacijom i time ispunjava sve zahtjeve čistoće za aditive te se može proizvesti na tehnološkoj razini (Lipinski i Hanger, 2001). U komercijalnoj prodaji acesulfam K se nalazi pod nazivima Sunett® i Sweet One® (FDA, 2018).

#### 2.3.1. Povijest primjene acesulfama K

Clauss i Jensen su 1967. godine sasvim slučajno otkrili slatki spoj 5,6-dimetil-1,2,3-oksiazin-4(3H)-on-2,2-dioksid koji je imao novi sustav prstena koji prethodno nikada nije sintetiziran. Varijacije supstituenata na položajima 5 i 6 na prstenu pokazivale su različitu čistoću i intenzitet slatkoće. Dokazalo se da je kalijeva sol 6-metil-1,2,3-oksiazin-4(3H)-on-2,2-dioksida optimalna za primjenu kao zaslađivač. WHO (engl. *World Health Organization*) je 1978. godine registrirala acesulfam K kao aditiv u hrani (Lipinski i Hanger, 2001).

Nadalje, FDA je 1988. godine prihvatila acesulfam K za primjenu u samo određenim proizvodima, dok je 2003. godine označen kao zaslađivač i pojačivač okusa opće namjene u hrani, osim primjene za meso i perad. Danas se acesulfam K najčešće koristi u zamrznutim desertima, slatkišima, napitcima te u raznoraznim pecivima (FDA, 2018).

### **2.3.2. Metabolizam acesulfama K**

Acesulfam K se ne može metabolizirati u ljudskom tijelu. Kako bi se ispitali mogući metaboliti korišten je  $^{14}\text{C}$ - označen acesulfam K, a ispitivanja provedena na štakorima, svinjama i psima su pokazala da se spoj ne metabolizira. Studije na ljudima su pokazale iste rezultate. U oba je slučaja došlo do potpune ekskrecije nemetaboliziranog acesulfama K najvećim dijelom putem mokraćne. Provedene su i farmakokinetičke studije na životinjama i ljudima, pri čemu se zaključilo da dolazi do brze apsorpcije, ali i vrlo brze ekskrecije (Lipinski i Hanger, 2001).

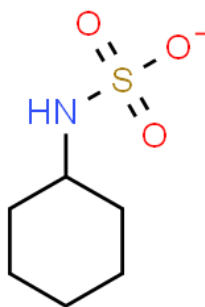
### **2.3.3. Rizici primjene acesulfama K za ljudsko zdravlje**

$\text{LD}_{50}$  vrijednost je količina tvari koja izaziva smrtnost 50% populacije te u slučaju acesulfama K za oralnu konzumaciju iznosi 6,9 - 8 g  $\text{kg}^{-1}$  t.m., dok za intraperitonealni unos  $\text{LD}_{50}$  iznosi 2,2 g  $\text{kg}^{-1}$  t.m. Akutna oralna toksičnost acesulfama K je toliko niska da se može smatrati gotovo netoksičnim. Ispitan je subkronični toksični učinak pri čemu su miševi hranjeni koncentracijama od 0 - 10% acesulfama K tijekom 90 dana. Ispitan je i kronični toksični učinak na miševima i psima te provedeni testovi kancerogenosti u trajanju od dvije godine u koncentracijama do 3% ukupnog prehranbenog unosa. Ispitan je i cijeli niz drugih testova koji su potvrdili sigurnost acesulfama K kao zaslađivača. Više od 90 studija potvrđuje njegovu sigurnost (Lipinski i Hanger, 2001).

Sigurnost acesulfama K potvrdili su i JEFCA (engl. *Joint Expert Committee on Food Additives*), FAO (engl. *Food and Agriculture Organization*) i WHO pri čemu je donesena odluka da ADI vrijednost iznosi 9 mg  $\text{kg}^{-1}$  t.m.  $\text{dan}^{-1}$ . Danas ADI vrijednost prema FDA iznosi 15 mg  $\text{kg}^{-1}$  t.m.  $\text{dan}^{-1}$ , dok prema EFSA-i iznosi 9 mg  $\text{kg}^{-1}$  t.m.  $\text{dan}^{-1}$ . Europska ADI vrijednost se temelji na studijama provedenim na psima, dok se američka ADI vrijednost temelji na studijama provedenim na miševima (FDA i EFSA). Dozvoljena količina u prehranbenim proizvodima varira između 350 - 1000 mg  $\text{kg}^{-1}$  ovisno o kategoriji hrane. Potrebno je konzumirati 0,5 kilograma marmelade koja sadrži 1000 mg  $\text{kg}^{-1}$  acesulfama K odnosno 1,5 litara bezalkoholnog gaziranog pića koje sadrži 350 mg  $\text{kg}^{-1}$  acesulfama K kako bi se postigla ADI vrijednost od 9 mg  $\text{kg}^{-1}$  t.m.  $\text{dan}^{-1}$  (Mortensen, 2006).

### **2.4. CIKLAMAT (E952)**

Ciklaminska kiselina je bijeli, kristalni prah molekulske formule  $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{S}$  i molarne mase 179,24 g  $\text{mol}^{-1}$  (Slika 4). Dobro je topljiva u vodenim otopinama.



Slika 4. Kemijska struktura ciklaminske kiseline (ChemSpider, 2020d)

Natrijev i kalcijev ciklamat su neutralnog karaktera te se nalaze u obliku bijelog praha i bijelih kristala. Soli su slabo topljive u vodi i ograničeno topljive u mastima. Ciklamat je otprilike 30 puta slađi od saharoze, ali za razliku od slatkog okusa saharoze koji se pojavljuje gotovo odmah, slatkoća ciklamata se postepeno pojačava u ustima te okus traje dulje. Kalcijev ciklamat je nešto manje sladak od natrijevog. Ciklamat se uglavnom koristi u kombinaciji s drugim sladilima poput saharina. Danas se koristi u više od sto zemalja, dok je u SAD-u zabranjen. Ciklamat je rasprostranjen u cijelom nizu zemalja i proizvoda jer ima značajna pozitivna tehnološka svojstva. Ne ostavlja neugodan miris i može se kombinirati s većinom hrane, prirodnim i umjetnim aromama i kemijskim konzervansima. Topljivost ciklamata je zadovoljavajuća, a ima i visoku stabilnost pri širokom rasponu pH vrijednosti, temperatura i u prisutnosti svjetla i kisika (Bopp i Price, 2001).

#### 2.4.1. Povijest primjene ciklamata

Ciklamat je 1973. godine slučajno sintetizirao znanstvenik Michael Sved na Sveučilištu u Illinois-u. U laboratoriju je pokušavao sintetizirati lijek za spužtanje tjelesne temperature, ali je shvatio da je sintetizirao nepoznatu i slatku supstancu. Abbott Laboratories je uskoro preuzeo patent te su započeli s istraživanjima. FDA je 1950. godine zaprimila NDA (engl. *New Drug Application*) dokument kojim je ciklamat prihvaćen za primjenu, ali samo u obliku tableta koje su bile namijenjene dijabetičarima te onima koji su morali ograničiti primjenu šećera. Zatim je FDA 1958. godine potvrdila GRAS status (engl. *Generally Recognized as Safe*) ciklamata. Tijekom 1960-ih godina mješavina ciklamata i saharina se koristila za zaslađivanje bezalkoholnih gaziranih pića. Tada je potrošnja ciklamata naglo skočila te je odlučeno da je potrebno provesti dodatna istraživanja kako bi se utvrdila sigurnost ciklamata. Studija kronične toksičnosti provedena je 1969. godine te je nakon nje donesen zaključak da ciklamat potencijalno doprinosi razvoju karcinoma mjehura. Ciklamat je ubrzo nakon toga izgubio GRAS status, a njegovo korištenje u hrani, napitcima i lijekovima u SAD-u i u mnogim drugim zemljama u potpunosti je zabranjeno 1970. godine. Procjene od strane mnogih institucija



poput *Cancer Assessment Committee, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Scientific Committee for Foods of the European Union* i WHO ukazuju da je ciklamat u potpunosti siguran za primjenu kao aditiv. Usprkos brojnim istraživanjima sigurnosti primjene ciklamata, u SAD-u danas nije dozvoljena njegova primjena (Bopp i Price, 2001).

#### **2.4.2. Metabolizam ciklamata**

Ciklamat se sporo i nepotpuno apsorbira u gastrointestinalnom traktu. U većini tkiva ne dolazi do koncentriranja, a kada je jednom apsorbiran izlučuje se nepromijenjen urinom. Koncentracije cikloheksilamina u plazmi nakon unosa ciklamata ovisiti će o stupnju metabolizma te o stupnju eliminacije cikloheksilamina iz cirkulacije (Bopp i Price, 2001).

Prve studije koje su provedene na ciklamatu, nisu zamijetile način na koji se ciklamat metabolizira. Kojima i Ichibagase (1966) prvi su primijetili cikloheksilamin u urinu ispitanika. Ista konverzija je zamijećena i kod miševa, štakora, zamoraca, svinja, majmuna. Ciklamat se ne metabolizira u cikloheksilamin u tkivu sisavaca, već se cikloheksilamin formira zbog djelovanja mikroflore prisutne u crijevima. Iznimno je bitno naglasiti, da je transformacija ciklamata u cikloheksilamin varijabilna među pojedincima. Pojedini ispitanici uopće ne mogu metabolizirati ciklamat, dok ga drugi metaboliziraju u velikom postotku. Postavljene ADI vrijednosti su u skladu sa saznanjima metaboliziranja cikloheksilamina (Bopp i sur., 1986).

#### **2.4.3. Rizici primjene ciklamata za ljudsko zdravlje**

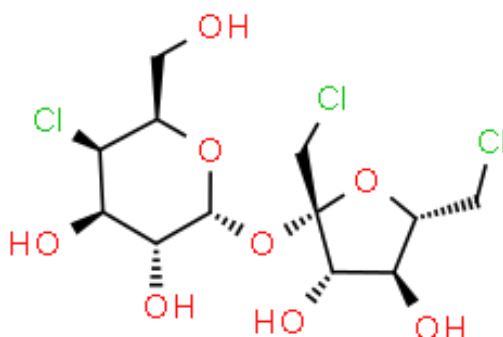
Dvogodišnja studija provedena je 1969. godine na štakorima koji su hranjeni smjesom natrij ciklamata i saharina u omjeru 10:1 u dnevnim dozama od 500, 1120 ili 2500 mg kg<sup>-1</sup> t.m. Presudni zaključak studije bila je pojava papilarnih karcinoma u mokraćnim mjehurima 12 od 70 štakora koje su hranjeni najvišom dozom ciklamata kroz razdoblja između 78 - 105 tjedana (osim jedne ranije smrti). Taj je nalaz bio glavni razlog uklanjanja GRAS statusa ciklamata (Oser, 1985).

Takayama i suradnici (2000) proveli su studiju kronične toksičnosti na primatima. 21 primat je hranjen sa 100 odnosno 500 mg kg<sup>-1</sup> ciklamata na dan tijekom 24 godine. Doza od 500 mg kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup> ekvivalentna je konzumiranju 30 limenki niskokaloričnih sokova. Nakon obdukcije u skupini koja je konzumirala ciklamat tri životinje pokazale su malignosti, dok nijedna nije pronađena u kontrolnim skupinama. Svaki primat je imao drugačiju vrstu raka. Autori su zaključili da studija nije dokazala kancerogenost ciklamata jer su karcinomi različiti i nije postojala korelacija između konzumacije i pojave karcinoma. Moguća povezanost karcinoma u ljudi, posebno raka mokraćnog mjehura i konzumacije nekaloričnih zaslađivača detaljno je proučavana posljednjih 20 - 30 godina te je zaključeno da ciklamat nije kancerogen.

SCF je 1984. godine propisala ADI vrijednost za ciklamat koja je iznosila  $11 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ , a 2000. godine zaključno je propisana vrijednost od  $7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ . Ciklamat je dozvoljen u cijelom nizu proizvoda poput mlijeka, mliječnih proizvoda i u voćnim sokovima. Dozvoljena količina varira između  $250 - 1500 \text{ mg kg}^{-1}$  ovisno o kategoriji hrane. Kako bi došlo do prekoračenja ADI vrijednosti morali bismo konzumirati 1,5 litru bezalkoholnog pića koje sadrži  $250 \text{ mg L}^{-1}$  ciklamata (Mortensen, 2006).

## 2.5. SUKRALOZA (E955)

Sukraloza ili 1,6-dikloro-1,6-dideoksi- $\beta$ -D-fruktofuranozil-4-kloro-4-deoksi- $\alpha$ -D-galaktopiranozid intenzivno je umjetno sladilo, koje je 400 - 800 puta slađe od saharoze i nema kalorijsku vrijednost (Slika 5).



Slika 5. Kemijska struktura sukraloze (ChemSpider, 2020e)

Sukraloza je bijeli, kristalni, nehigroskopi prah. Zasladivač je visoko topljiv u vodi, etanolu i metanolu te mu s porastom temperature raste i topljivost. Viskoznost otopine sukraloze slična je saharozi, što znači da viskoznost neće uzrokovati probleme s miješanjem ili disperzijom u hrani. Ima zanemariv utjecaj na smanjenje površinske napetosti i pH otopine. Sukraloza nastaje selektivnim kloriranjem molekule saharoze. Sukraloza ima ugodan slatki okus sličan saharozi i nema neugodan „aftertaste“, koji je često neizbježan kod umjetnih zaslađivača. Sukraloza je izuzetno stabilna te otporna i na visoke temperature, što omogućuje njezinu primjenu u cijelom nizu proizvoda (Goldsmith i Merkel, 2001).

Sukraloza je u komercijalnoj prodaji poznata pod imenom Splenda®. Sukraloza zauzima 27,9% svjetskog tržišta umjetnih zaslađivača te se nalazi u tisućama različitih proizvoda. Raspon proizvoda u kojima se koristi je puno opsežniji nego za druge umjetne zaslađivače, zbog iznimno povoljnih fizikalno-kemijskih svojstava, na primjer topljivost u etanolu, metanolu i vodi (Schiffman i Rother, 2013).

### **2.5.1. Povijest primjene sukraloze**

Za razliku od većine umjetnih zaslađivača, sukraloza nije otkrivena slučajno. Otkrivena je tijekom 1970-ih godina na Queen Elizabeth College-u u Londonu. Hough i suradnici, uz pomoć Tate & Lyle PLC, dokazali su da selektivnom klorinacijom saharoze može nastati intenzivno sladak spoj. Takvo saznanje potaknulo je cijeli niz istraživanja koja su dovela do otkrića sukraloze (Goldsmith i Merkel, 2001).

### **2.5.2. Metabolizam sukraloze**

Sukraloza se ne metabolizira i ne skladišti u tijelu. Nakon konzumacije dolazi do brze asporpcije, nakon koje se brzo izluči nepromijenjena (Goldsmith i Merkel, 2001).

### **2.5.3. Rizici primjene sukraloze za ljudsko zdravlje**

SCF je 1983. godine prvi puta dao svoje mišljenje o primjeni sukraloze u prehrambenim namirnicama. Tada je sukraloza ocjenjena toksikološki neprihvatljivom zbog nekoliko provedenih ispitivanja. Nakon toga je 2000. godine SCF dozvolio primjenu sukraloze te odredio ADI vrijednost koja iznosi  $15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ . Sukraloza je dozvoljena u cijelom nizu proizvoda poput napitaka, deserata, sladoleda, konzervi. Dozvoljena količina sukraloze u hrani može biti između 10 i 1000  $\text{mg kg}^{-1}$  ovisno o kategoriji hrane. Potrebno je pojesti 2 kg deserta koji sadrži  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  ili popiti 3 litre bezalkoholnog pića koje sadrži  $300 \text{ mg L}^{-1}$  sukraloze kako bi se postigla dnevna ADI vrijednost (Mortensen, 2006).

ADI vrijednost u Europi iznosi  $15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ , dok je ADI vrijednost u SAD-u  $5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$  te ne postoje restrikcije za ranjive skupine stanovništva, koje uključuju trudnice, dojilje, djecu i osobe starije životne dobi (FDA, 2018; EFSA, 2019).

Istraživanje provedeno na miševima indicira da je NOAEL (engl. *No Observed Adverse Effect Level*) za sukralozu puno niža od ADI vrijednosti postavljene od FDA i EU. Dokazano je da dolazi do značajnih promjena na mikrobiomu štakora već pri dozama od  $1,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ t.m. dan}^{-1}$ . Ovakve promjene mogu uzrokovati crijevne poremećaje poput sindroma iritabilnog crijeva. Potrebna su dodatna istraživanja za utvrđivanje štetnih učinaka sukraloze na organizam (Schiffman i Rother, 2013).

## **2.6. RIZICI PRIMJENE UMJETNIH ZASLAĐIVAČA ZA LJUDSKO ZDRAVLJE**

Zbog porasta upotrebe umjetnih zaslađivača proveden je cijeli niz ispitivanja o njihovom utjecaju na zdravlje. Kod zdravih ispitanika najviše istraživanja učinaka umjetnih zaslađivača je usmjereno prema povećanju/smanjenju apetita, riziku od raka, riziku od dijabetesa,

povećanju tjelesne mase, razvoju karijesa. Nešto manje istraživanja usmjereno je na bihevioralne, kognitivne i kardiovaskularne učinke, te riziku od kroničnih bolesti bubrega i prijevremenog poroda (Lohner i sur., 2017). Rezultati dobiveni istraživanjima su često kontradiktorni.

Halldorsson i suradnici (2010) istraživali su postoji li koleracija između unosa umjetnih zaslađivača s prijevremenim porodom. Analizirane su 59 334 trudnice u Danskoj u razdoblju od 1996. - 2002. godine. Učestalost unosa umjetnih zaslađivača procijenjen je pomoću upitnika (engl. *food-frequency questionnaire*). Tim istraživanjem utvrđeno je povećanje vjerojatnosti prijevremenog poroda za žene koje su redovito upotrebljavale umjetne zaslađivače.

Petherick i suradnici (2014) također su istraživali postoji li korelacija između unosa umjetnih zaslađivača s prijevremenim porodom. Analizirane su 8 914 trudnice u razdoblju od 2007. – 2010. godine. Unos umjetnih zaslađivača ispitan je s općenitim upitnikom o zdravlju i učestalosti konzumacije umjetnih zaslađivača. Ovim istraživanjem zaključeno je da ne postoji povećanje vjerojatnosti prijevremenog poroda uslijed učestale konzumacije umjetnih zaslađivača.

U slijedećim poglavljima stavljen je naglasak na tri potencijalna učinka umjetnih zaslađivača na organizam: djelovanje na apetit i debljinu, interakcija s mikrobiomom i utjecaj na kognitivne funkcije.

### **2.6.1. Utjecaj umjetnih zaslađivača na apetit i debljinu**

Trenutno je prisutna globalna epidemija pretilosti te sve veći broj osoba umire zbog posljedica prekomjerne tjelesne mase. Konzumacija umjetnih zaslađivača sve je učestalija, ali isto tako sve je veći postotak osoba s prekomjernom tjelesnom masom (Lohner i sur., 2017). Zbog toga je iznimno bitno utvrditi jesu li umjetni zaslađivači u potpunosti inertni za organizam, tj. jesu li učinkoviti alat za smanjenje unosa šećera i dodatnih kalorija kako bi se održala zdrava tjelesna masa ili imaju potpuno suprotan efekt.

Neka istraživanja ukazala su da izlaganje umjetnim zaslađivačima *in utero* može biti potencijalna predispozicija za razvitak pretilosti u ranim fazama života. Tako su Azad i suradnici (2016) proveli istraživanje koje je uključivalo 3 033 trudnice tijekom razdoblja od 2009. do 2012. godine. Cilj istraživanja je bio utvrditi postoji li korelacija između *in utero* izloženosti umjetnim zaslađivačima i prekomjerne tjelesne mase dojenčadi. Tijekom trudnoće žene su bile ispitivane pomoću upitnika kako bi se odredila učestalost konzumacije umjetnih zaslađivača. Nakon provedenih mjerenja prosječni ITM (indeks tjelesne mase) dojenčadi (u dobi od godine

dana) iznosio je 0,19, što ukazuje na pretilost u iznosu od 5,1%. Gotovo je četvrtina žena konzumirala umjetne zaslađivače tijekom trudnoće, dok je 5,1% prijavilo svakodnevnu konzumaciju. Učestala konzumacija umjetnih zaslađivača povezana je s porastom ITM novorođenčadi. Rezultati su pokazali da se rizik za prekomjernu tjelesnu masu dojenčadi u dobi od jedne godine udvostručuje. S obzirom na trenutnu epidemiju dječje pretilosti i široku upotrebu umjetnih zaslađivača, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se istražili temeljni biološki mehanizmi, s krajnjim ciljem sastavljanja prehrambenih preporuka za trudnice utemeljenih na rezultatima istraživanja (Azad i sur., 2016).

Fantino i suradnici (2018) su proveli istraživanje na zdravim odraslim osobama (n=166) koje nisu pretile (indeks tjelesne mase  $19 - 28 \text{ kg m}^{-2}$ ). Cilj istraživanja je bio utvrditi imaju li napitci zaslađeni umjetnim zaslađivačima utjecaj na povećanje tjelesne mase. Osobe su podijeljene u dvije skupine, a ispitivanje je podijeljeno u 2 etape. Prva etapa je trajala nekoliko dana, pri čemu je utvrđena količina hrane koju obje skupine uobičajeno konzumiraju. Druga etapa trajala je 5 tjedana. Ispitanici iz jedne skupine unosili su 660 mL limunade zaslađene umjetnim zaslađivačima, dok su ispitanici iz druge skupine unosili 660 mL vode uz obrok. Ispitanici obje skupine su tijekom 5 tjedana vodili dnevnik prehrane. Ovim istraživanjem nije zabilježena razlika u količinama unesene hrane između skupina, kao ni značajna promjena u tjelesnoj masi ispitanika.

Higgins i Mattes (2019) proveli su istraživanje na odraslim osobama (18 - 60 godina) s prekomjernom tjelesnom masom (indeks tjelesne mase  $25 - 40 \text{ kg m}^{-2}$ ). Svrha ispitivanja bila je utvrditi razlike između utjecaja umjetnih zaslađivača i saharoze na tjelesnu masu. Sudionici su razvrstani slučajnim odabirom te su konzumirali 1,25 - 1,75 L napitka zaslađenog saharozom (n=39), saharinom (n=29), sukralozom (n=28) ili aspartamom (n=30) tijekom 12 tjedana. Ispitanici koji su konzumirali zaslađena pića sa saharozom dnevno su unosili 400 - 560 kcal putem napitaka, dok su ostale skupine unosile manje od 5 kcal dnevno. Tjelesna masa je mjerena svaka dva tjedna, dok su energetske unos, potrošnja i procjena apetita mjereni svaka četiri tjedna. Primjećena je ovisnost tjelesne mase o vrsti konzumiranog zaslađivača. Ispitanici koji su tijekom 12 tjedana konzumirali saharozu i saharin imali su značajno povećanje tjelesne mase koja je iznosila  $1,85 \pm 0,36 \text{ kg}$ , dok kod ispitanika koji su konzumirali aspartam nije došlo do značajnih promjena u tjelesnoj masi ( $0,73 \pm 0,35 \text{ kg}$ ). Ispitanici koji su konzumirali sukralozu imali su značajan pad tjelesne mase koji je iznosio  $1,37 \pm 0,52 \text{ kg}$ . Kroz 12 tjedana nije došlo do statistički značajne promjene glikemijskog odgovora. Appetit, odnosno osjećaj gladi, jedino se povećao kod skupine ispitanika koja je konzumirala saharin. Razlog porasta tjelesne mase kod skupine ispitanika koja je konzumirala saharozu je povećan unos kalorija,

dok kod skupine koja je konzumirala saharin je to povećan apetit te posljedično tome i veći unos kalorija.

Utjecaj saharina na tjelesnu masu nije u potpunosti jasan. Trenutni dokazi povezuju konzumaciju saharina s porastom tjelesne mase, kako u epidemiološkim tako i u studijama na glodavcima. Procjenjuje se da na godišnjoj razini dolazi do porasta od 0,5 - 0,6 kg za odrasle (Malhotra i sur., 2013) odnosno 1,5 kilograma za studentsku populaciju uslijed učestale konzumacije saharina (Fedewa i sur., 2014). Bitno je napomenuti da u istraživanju kojeg su proveli Higgins i Mattes (2019) nije došlo do statistički značajnog porasta masnog tkiva i nastanka zdravstvenih problema koji se povezuju s porastom tjelesne mase, poput intolerancije glukoze i povećane koncentracije lipida u krvi.

Većina provedenih istraživanja ne pokazuju korelaciju između upotrebe umjetnih zaslađivača i povećanja tjelesne mase. Saharin je jedini umjetni zaslađivač koji je u najnovijim istraživanjima ukazao da potencijalno povećava apetit, što posljedično dovodi do povećanja na masi (Higgins i Mattes, 2019). Većina istraživanja imala je premalen broj ispitanika, kratko razdoblje ispitivanja te je korištena smjesa umjetnih zaslađivača. Zaslađivače je potrebno promatrati kao pojedinačne komponente koje djeluju zasebno na naš organizam, a ne kao skupinu.

### **2.6.2. Interakcija mikrobioma s umjetnim zaslađivačima**

Mikrobiom crijeva se istražuje već nekoliko desetljeća, ali tijekom posljednjih petnaestak godina dolazi do intenzivnog rasta broja istraživanja (Cani, 2018). Ljudska crijeva sadrže trilijune mikroorganizama. Broj mikroorganizama uvelike premašuje broj somatskih stanica. U ljudskom mikrobiomu dominiraju četiri glavne skupine bakterija - *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* i *Proteobacteria*. U zdravoj populaciji postoji obilje različitosti (filogenetske, funkcionalne i genomske) mikroorganizama u crijevima, ali studije dokazuju da postoji „bazični mikrobiom“ koji ima slične metaboličke mogućnosti, poput metabolizma aminokiselina i ugljikohidrata. Populacija mikroorganizama je specifična za svakog pojedinca poput otiska prsta (Turnbaugh i sur., 2009).

Disrupcija ili disbioza mikrobioma povezana je s cijelim nizom metaboličkih bolesti poput pretilosti, dijabetesa, bolesti jetre, raka pa čak i neurodegenerativnih bolesti (Cani, 2018). Prehrana je gotovo glavni modulator mikrobiote. „Zapadna“ prehrana koja ima nizak udio biljnih namirnica i samim time vlakana, a visok udio zasićenih masti i šećera negativno djeluje na mikrobiom te smanjuje bakterijsku raznolikost (Cordain i sur., 2005).

U istraživanju koje je potvrdilo važnost mikrobioma, transplantiran je fekalni materijal iz mršavih i pretilih miševa u „germ-free“ miševe. Studija je pokazala da miševi koji su primili fekalni materijal iz pretilih miševa su u konačnici imali veću tjelesnu masu od skupine koja je primila fekalni materijal iz mršavih miševa, usprkos jednakom kalorijskom unosu (Turnbaugh i sur., 2006). Ovakva opažanja potaknula su velik broj istraživanja usmjerenih prema razumijevanju razlika između mikrobiote u mršavih i pretilih pojedinaca. Studije pokušavaju dokazati na koji način mikrobiom crijeva komunicira s domaćinom, odnosno ima li utjecaj na tjelesnu masu i metaboličko zdravlje.

Dijabetes godišnje uzrokuje 1,5 milijardi smrti diljem svijeta te se smatra da će do 2030. godine postati globalni 7. uzrok smrti (WHO, 2020). Nekoliko studija pokazuje povezanost mikrobiote s inzulinskom rezistencijom koja dovodi do razvoja dijabetesa tipa 2.

U istraživanju koje su proveli Vrieze i suradnici (2010) muškarci kojima je dijagnosticiran dijabetes tipa 2 podijeljeni su u dvije skupine. Prva skupina je tijekom 6 tjedana primala fekalne transplantate od zdravih osoba, dok je druga skupina primala vlastite fekalne transplantate. Prva skupina je pokazala značajna poboljšanja osjetljivosti na inzulin s gotovo udvostručenjem stope odlaganja glukoze. Eksperiment je dokazao da rast određenih vrsta bakterija može biti predispozicija u razvoju inzulinske rezistencije, odnosno dijabetesa tipa 2.

Većina umjetnih zaslađivača izlučuje se iz tijela sisavaca nepromijenjena pa se zato smatraju metabolički inertnima, odnosno tvarima bez ikakvog fiziološkog učinka na domaćina. Nemogućnost metaboliziranja ne isključuje mogućnost da ovi spojevi mogu reagirati s mikrobiomom crijeva. U teoriji takve interakcije mogu imati indirektne, ali ozbiljne posljedice (Cordain i sur., 2005).

Anderson i Kirkland (1980) su prvi uočili interakciju mikrobioma s umjetnim zaslađivačima. U njihovom istraživanju štakori su hranjeni sa 7,5%-tnim saharinom tijekom 10 dana te je dokazana prevalencija aerobnih fekalnih bakterija nad anaerobnima.

Suez i suradnici (2015) dokazali su da konzumacijom umjetnih zaslađivača dolazi do promjene mikrobioma kod miševa i ljudi. Prvi provedeni eksperiment uključivao je tri komercijalne formulacije koje sadrže nisku dozu jednog od tri umjetna zaslađivača: sukralozu, aspartam ili saharin. Nakon 11 tjedana, uspoređujući kontrolne miševe koji su konzumirali vodu, saharozu ili glukozu, miševi koji su konzumirali jedan od tri umjetna zaslađivača razvili su intoleranciju na glukozu. Već nakon 8 tjedana došlo je do povećanja koncentracije glukoze u krvi, dok je 11. tjedan vidljiv još veći skok vrijednosti. Takav fenotip mora biti povezan s mikrobiomom jer

je upotreba dva različita antibiotika (djelovanje na gram-negativne ili gram-pozitivne bakterije) rezultirala poništavanjem učinaka umjetnih zaslađivača.

Daljnja istraživanja koja su uključivala proučavanje učinka saharina pokazala su štetno djelovanje na organizam. Primjer je transplantacija fekalnog materijala iz miševa koji su konzumirali saharin u „germ-free“ miševima. Primatelji fekalnog materijala razvili su intoleranciju na glukozu, što dokazuje da je promjena u mikrobiomu glavni „krivac“ za metaboličke promjene. Testirana je potencijalna korelacija umjetnih zaslađivača i promjena na mikrobiomu ljudi. Prilikom istraživanja konzumacije umjetnih zaslađivača kod zdravih osoba ustanovljena je korelacija s različitim kliničkim parametrima poput indeksa tjelesne mase, krvnog tlaka te koncentracije glukoze u krvi. Dokazano je i povećanje broja određenih vrsta bakterija poput *Actinobacteria phylum*, *Enterobacteriales* i različitih vrsta *Clostridiales*. Uspoređujući ovo istraživanje s ranije provedenima i epidemiološkim studijama koja su trajale kraće, pokazano je da učinci umjetnih zaslađivača mogu biti suptilni te da se s vremenom nakupljaju u organizmu. Drugim riječima, takvi rezultati se ne mogu uočiti u kratkim kontroliranim studijama ili u direktnim usporedbama sa saharozom (Suez i sur., 2015).

Suez i suradnici (2015) su naposljetku ispitali dolazi li do promjene u mikrobiomu crijeva ukoliko su ispitanici (n=7) koji inače ne konzumiraju umjetne zaslađivače, izloženi ADI vrijednosti saharina od 5 mg kg<sup>-1</sup> t.m. dan<sup>-1</sup>. Nakon 7 dana, tri ispitanika su razvila intoleranciju na glukozu. Fekalnim transplantacijama kod pojedinaca koji su razvili intoleranciju na glukozu u „germ-free“ miševima demonstrirano je da se inzulinska rezistencija može prenositi putem mikrobiote crijeva. Ovo opet sugerira da nisu svi pojedinci podjednako pogođeni konzumiranjem zaslađivača, a odgovor može ovisiti o individualnom profilu mikrobiote crijeva.

Uebanso i suradnici (2017) proveli su studiju na miševima kojima su davali acesulfam K otopljen u vodi tijekom 8 tjedana (n=9). Kontrolni miševi (n=8) konzumirali su samo destiliranu vodu. Izmjerena je tjelesna masa obje skupine i unos tekućine, a autori su izvijestili o prosječnoj izloženosti od 12,9 mg kg<sup>-1</sup> t.m. dnevno za skupinu koja je konzumirala acesulfam K. Potrošnja tekućine i unos energije su bile ekvivalentne između ispitivanih skupina. U fekalnim uzorcima utvrđene su bakterije iz rodova *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Bacteroides*, *Clostridium IV* i *Clostridium* koje su bile ekvivalentne između skupina. Autori su zaključili da acesulfam K nije značajno promijenio mikrobiotu crijeva u miševima koji su bili izloženi količini koja je ekvivalentna ADI vrijednosti.

Veliki broj studija sugerira da konzumacijom umjetnih zaslađivača dolazi do promjene sastava bakterija u crijevima te samim time narušavanja metaboličkog zdravlja osjetljivih pojedinaca.



Ipak, ne postoji definirana mikrobiota, jer rezultati studija ne pokazuju jednak soj bakterija na koje zaslađivači utječu. Razlozi nedosljednih rezultata mogu biti zbog različite mikrobiote pojedinaca, odnosno jedinstvenog kemijskog sastava, metabolizma i konzumirane doze zaslađivača (Nettleton i sur., 2016).

Ispitivanja ne pokazuju jasne štetne učinke umjetnih zaslađivača na mikrobiotu u trenutno propisanim dozama. Istraživanja o utjecaju mikrobiote na ljudsko zdravlje su iznimno bitan proces, stoga se studije koje procjenjuju utjecaj aditiva na mikrobiotu moraju provesti na dobro odabranim modelima životinja ili kliničkoj populaciji u relevantnim koncentracijama. Bitno je u ispitivanje uključiti i faktore poput prehrambenih navika koje također doprinose promjenama mikrobiote. Desetljeća istraživanja acesulfama K, aspartama, saharina, sukraloze i ciklamata koji su strukturno nepovezani, ukazuju na to da umjetni zaslađivači, kao grupa ili pojedinačno, ne predstavljaju sigurnosnu prijetnju u količinama koje su trenutno odobrene (Lobach i sur., 2019).

### **2.6.3. Utjecaj umjetnih zaslađivača na kognitivne funkcije mozga**

Erbaş i suradnici (2018) proveli su istraživanje čiji je cilj bila usporedba efekta aspartama, saharina i sukraloze na mozak štakora. Kontrolna skupina (n=6) konzumirala je vodovodnu vodu, dok su ostale skupine konzumirale aspartam ( $3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , n=6), saharin ( $3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , n=6) ili sukralozu ( $1,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , n=6) otopljene u vodovodnoj vodi. Nakon 6 tjedana konzumacije, proveden je PAL test (engl. *The passive avoidance learning*) kako bi se utvrdili neurobihevioralni efekti zaslađivača. PAL test je pokus koji se temelji na izbjegavanju zadatka kojeg štakor nagonski želi ispuniti jer je motiviran strahom. Štakor se uči suzdržati od prolaska kroz vrata koja su naizgled sigurnija (mrak), ali zapravo vode do odjeljka u kojem se vrši električni udar. Duljina latencije u tamni odjeljak služi kao indeks sposobnosti izbjegavanja i omogućuje procjenu pamćenja.

Rezultati ANOVA testa pokazali su značajnu razliku između skupina, tj. skupine koje su konzumirale umjetne zaslađivače imale su smanjenu memoriju jer su pokazale kraće razdoblje latencije prilikom ulaska u tamnu komoru za razliku od skupine koja je konzumirala vodu. Kontrolna skupina je imala najdulje vrijeme latencije koje je iznosilo čak 280 s. Padajućim redoslijedom slijede skupine koje su konzumirale saharin (150 s), sukralozu (100 s) i aspartam (70 s).

Zabilježena je i značajna lipidna peroksidacija koja je određena mjerenjem razine malondialdehida (MDA) kao parametra kojim se utvrđuje oksidacijski stres. Kod miševa iz kontrolne skupine izmjerene su najniže koncentracije MDA ( $5,6 \text{ nmol } \mu\text{g}^{-1} \text{ proteina}$ ). Rastućim

redosljedom slijede skupine koje su konzumirale sukralozu ( $7,0 \text{ nmol } \mu\text{g}^{-1}$  proteina), saharin ( $7,1 \text{ nmol } \mu\text{g}^{-1}$  proteina) i aspartam ( $10,1 \text{ nmol } \mu\text{g}^{-1}$  proteina) (Erbaş i sur., 2018).

Istraživanje Erbaş-a i suradnika (2018) je provedeno kako bi se procijenio učinak primjene zaslađivača tijekom duljeg vremenskog razdoblja na integritet hipokampusa, broj neurona i glija stanica procijenjenih u CA1 i CA3 regijama hipokampusa. Analiza je otkrila značajne i selektivne gubitke piramidalnih neurona kod skupine koja je konzumirala aspartam. Zabilježena je povišena razina MDA i snižena razina hipokampalnih neurona. Takvi rezultati sugeriraju da memorijski poremećaj kod štakora može biti povezan s povećanjem oksidacijskog stresa, hipokampalnim neuralnim gubitkom i gliozom.

Salam i suradnici (2012) dokazali su negativan učinak aspartama na membransku funkciju štakora, pri čemu su štakori bili podijeljeni na skupinu koja je konzumirala niske koncentracije ( $0,624 - 1,875 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i skupinu koja je konzumirala visoke koncentracije aspartama ( $5,625 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Nakon dva tjedna, utvrdili su da su samo visoke doze aspartama značajno utjecale na parametre oksidacijskog stresa.

U drugoj *in vivo* studiji na miševima, Abu-Taweel i suradnici (2014) otkrili su da unos aspartama tijekom duljeg vremenskog perioda povećava oksidativna oštećenja, smanjuje koncentracije serotonina i noradrenalina te uzrokuje značajne negativne učinke na kognitivne reakcije i pamćenje.

Naposljetku, rezultati ovih studija sugeriraju da kronični unos aspartama može dovesti do strukturalnih i funkcionalnih promjena na hipokampusu, koji je ključno područje za memorijske funkcije. Nema dovoljno istraživanja koja dokazuju povezanost između saharina i sukraloze s oksidacijskim stresom i memorijom. Ipak, najnovija istraživanja ukazuju na moguća negativna djelovanja saharina, aspartama i sukraloze.

### 3. ZAKLJUČAK

Umjetni zaslađivači su kemijske tvari koje imaju izuzetno sladak okus i vrlo nisku ili nikakvu kalorijsku vrijednost, a najčešće se upotrebljavaju aspartam, saharin, acesulfam K, ciklamat i sukraloza.

Umjetni zaslađivači se nalaze na sve širem tržištu i imaju sve veću primjenu. Na američkom tržištu njihova potrošnja je u stalnom porastu, dok u Europi potrošnja stagnira ili bilježi spori pad. Istraživanja pokazuju da konzumacija aspartama može uzokovati oksidacijski stres te negativno djelovati na tjelesnu masu i inzulinsku rezistenciju. Istraživanja pokazuju da konzumacija saharina može uzokovati porast tjelesne mase, odnosno kronična konzumacija može djelovati na lipidni profil i uzokovati oštećenje bubrega. Acesulfam K se prema dosadašnjim istraživanjima pokazao prilično siguran za ljudsko zdravlje, dok se ciklamat dugo vremena smatrao kancerogenim te je zato i danas zabranjena njegova primjena u SAD-u. U istraživanjima je zabilježeno da redovna konzumacija sukraloze, čak i pri vrijednostima manjim od ADI vrijednosti, može dovesti do promjene mikrobiote crijeva.

U novijim istraživanjima zabilježeni su negativni učinci umjetnih zaslađivača na metaboličko zdravlje. Otkriveno je da umjetni zaslađivači, u najvećoj mjeri saharin, imaju potencijalan utjecaj na porast tjelesne mase. S obzirom da su najveći potrošači umjetnih zaslađivača osobe koje imaju prekomjernu tjelesnu masu, potrebno je napraviti dodatna istraživanja. Također je dokazano da konzumacijom umjetnih zaslađivača dolazi do promjene sastava mikrobioma, koji posljedično može dovesti do razvoja dijabetesa tipa 2. Zabilježena je i korelacija konzumacije umjetnih zaslađivača sa smanjenjem kognitivnih funkcija i sporijim pamćenjem. Kako bi se točno utvrdili svi navedeni negativni utjecaji umjetnih zaslađivača na zdravlje pojedinaca, potrebno je provesti dodatna istraživanja.

#### 4. LITERATURA

Abdel-Salam O. M. E., Salem N. A., El-Shamarka M. E. S., Hussein J. S., Ahmed N. A. S., El-Nagar M. E. S. (2012) Studies on the effects of aspartame on memory and oxidative stress in brain of mice. *European Review for Medical and Pharmacological Science* **16** (15): 2092 - 2101.

Abu-Taweel G. M., Zyadah M. A., Ajarem J. S., Ahmad M. (2014) Cognitive and biochemical effects of monosodium glutamate and aspartame, administered individually and in combination in male albino mice. *Neurotoxicology and Teratology* **42**: 60 - 67.

Anderson R. L., Kirkland J. J. (1980) The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora. *Food and cosmetics toxicology* **18**: 353-55.

Azad M. B., Sharma A. K., de Souza R. J., Dolinsky V. W., Becker A. B., Mandhane P. J., Turvey S. E., Subbarao P., Lefebvre D. L., Sears M. R., Canadian Healthy Infant Longitudinal Development Study Investigators (2016) Association Between Artificially Sweetened Beverage Consumption During Pregnancy and Infant Body Mass Index. *JAMA pediatrics* **170** (7): 662–670.

Azeez O. H., Alkass S. Y., Persike D. S. (2019) Long-term saccharin consumption and increased risk of obesity, diabetes, hepatic dysfunction, and renal impairment in rats. *Medicina (Kaunas)* **55** (10): 681.

Bopp B. A., Sonders R. C., Kesterson J. W. (1986) Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamine. *Critical Reviews in Toxicology* **16**: 213–306.

Bopp B. A., Price P. (2001) Cyclamate. U: Alternative Sweeteners, 3. izd., O'Brien Nabors L., ur., Marcel Dekker, Inc., str. 63-87.

Butchko H., Stargel W. (2001) Aspartame: scientific evaluation in the postmarketing period. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **34** (3): 221-233.

Cani P. D. (2018) Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* **67**: 1716-1725.

Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R. (2014) Artificial sweeteners – a review. *Journal of Food Science and Technology* **51**: 611–621.

ChemSpider (2020a) Aspartame, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.118630.html?rid=5ed18406-adbd-44a5-8f66-1470947ebf43>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2020.

ChemSpider (2020b) Saccharin, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4959.html?rid=0fe357bc-55b0-4f12-be11-da0d39a048ff>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2020.

ChemSpider (2020c) Acesulfame potassium, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.55940.html?rid=00277e6a-d1ef-4d73-821e-8f36674ad166>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2020.

ChemSpider (2020d) Cyclamate, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2618330.html?rid=eababeff-d767-44ac-8708-e0ff12aac505>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2020.

ChemSpider (2020e) Sucralose, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.64561.html?rid=e3fc151a-4449-4cca-af39-4c53c5cf6274>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2020.

Choudhary A. K., Pretorius E. (2017) Revisiting the safety of aspartame. *Nutrition Reviews* **75** (9): 718–730.

Cordain L., Eaton S. B., Sebastian A., Mann N., Lindeberg S., Watkins B. A., O’Keefe J. H., Brand-Miller J. (2005) Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *American Journal of Clinical Nutrition* **81**: 341–354.

Danika M., Maryse D., Roberts A., Lee H. Y., Tian Y. T., Kaburagi N., Belmar P. (2018) “Low-/no-calorie sweeteners: a review of global intakes”. *Nutrients* **10** (3): 357.

Drenowski A., Rehm C. D. (2015) Socio-demographic correlates and trends in low-calorie sweetener use among adults in the United States from 1999 to 2008. *European Journal of Clinical Nutrition* **69** (9): 1035-1041.

EFSA (2019) Acceptable daily intake (ADI) of sweeteners in the EU. EFSA- European Food Safety Authority, <<https://ec.europa.eu/jrc/en/page/ss-table-7-acceptable-daily-intake-adi-sweeteners-eu-182968>>. Pristupljeno 20. travnja 2020.

Erbaş O., Erdoğan M. A., Khalilnezhad A., Solmaz V., Gürkan F. T., Yiğittürk G., Eroglu H. A., Taskiran D. (2018) Evaluation of long-term effects of artificial sweeteners on rat brain:

a biochemical, behavioral, and histological study. *Journal of biochemical and molecular toxicology* **32** (6).

Fantino M., Fantino A., Matray M., Mistretta F. (2018) Beverages containing low energy sweeteners do not differ from water in their effects on appetite, energy intake and food choices in healthy, non-obese French adults. *Appetite* **125**: 557-565.

FDA (2018) Additional information about high-intensity sweeteners permitted for use in food in the United States. FDA - Food and Drug Administration, <<https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/additional-information-about-high-intensity-sweeteners-permitted-use-food-united-states>>. Pristupljeno 20. travnja 2020.

Fedewa M. V., Das B. M., Evans E. M., Dishman R. K. (2014) Change in weight and adiposity in college students: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Preventive Medicine* **47** (5): 641–52.

Goldsmith L. A., Merkel C. M. (2001) Sucralose. U: *Alternative Sweeteners*, 3. izd., O'Brien Nabors L., ur., Marcel Dekker, Inc., str. 185-209.

Halldorsson T., Marin Strøm M., Petersen S. B., Olsen S. F. (2010) Intake of artificially sweetened soft drinks and risk of preterm delivery: a prospective cohort study in 59,334 Danish pregnant women. *The American Journal of Clinical Nutrition* **92** (3): 626–633.

Higgins K. A., Mattes R. D. (2019) A randomized controlled trial contrasting the effects of 4 low-calorie sweeteners and sucrose on body weight in adults with overweight or obesity. *American Journal of Clinical Nutrition* **109** (5): 1288-1301.

Kojima S., Ichibagase H. (1966) Studies on synthetic sweetening agents VIII. Cyclohexylamine, a metabolite of sodium cyclamate. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **14**: 971–974.

Lipinski G., Hanger L. Y. (2001) Acesulfame K. U: *Alternative Sweeteners*, 3. izd., O'Brien Nabors L., ur., Marcel Dekker, Inc., str. 13-31.

Lobach A. R., Roberts A., Rowland I. R. (2019) Assessing the *in vivo* data on low/no-calorie sweeteners and the gut microbiota. *Food and Chemical Toxicology* **124**: 385-399.

Lohner S., Toews I., Meerpohl, J. J. (2017) Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutrition Journal* **16**: 55.

- Magnuson B. A., Burdock G. A., Doull J., Kroes R. M., Marsh G. M., Pariza M. W., Spencer P. S., Waddell W. J., Walker R., Williams G. M. (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Critical Reviews in Toxicology* **37** (8): 629-727.
- Magnuson B. A., Carakostas M. C., Moore N. H., Poulos S. P., Renwick A. G. (2016) Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutrition Reviews* **74** (11): 670-689.
- Malhotra R., Ostbye T., Riley C. M., Finkelstein E. A. (2013) Young adult weight trajectories through midlife by body mass category. *Obesity (Silver Spring)* **21** (9): 1923–34.
- Mattes R. D., Popkin B. M. (2009) Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *American Journal of Clinical Nutrition* **89** (1): 1-14.
- Matthews D. M. (1984) Absorption of peptides, aminoacids, and their methylated derivatives. U: Aspartame: Physiology and Biochemistry, Stegink L. D., Filer L. J. Jr., ur., Marcel Dekker, New York, str. 29–46.
- Mazur R. H. (1984) Discovery of aspartame. U: Aspartame: Physiology and Biochemistry, Stegink L. D., Filer L. J. Jr., ur., Marcel Dekker, New York, str. 3 – 9.
- Mortensen A. (2006) Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition* **50** (3): 104-116.
- Nettleton J. E., Reimer R. A., Shearer J. (2016) Reshaping the gut microbiota: impact of low calorie sweeteners and the link to insulin resistance? *Physiology & Behavior* **164**: 488-493.
- Oser B. L. (1985) Highlights in the history of saccharin toxicology. *Food and Chemical Toxicology* **23** (4): 535-542.
- Otabe A., Ohta F., Takumi A., Lynch B. (2019) Mutagenicity and genotoxicity studies of aspartame. *Regulatory Toxicology Pharmacology* **103**: 345-351.
- Pearson R. L. (2001) Saccharin. U: Alternative Sweeteners, 3. izd., O'Brien Nabors L., ur., Marcel Dekker, Inc., str. 147–162.
- Petherick E. S., Goran M. I., Wright J. (2014) Relationship between artificially sweetened and sugar-sweetened cola beverage consumption during pregnancy and preterm delivery

in a multi-ethnic cohort: analysis of the Born in Bradford cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition* **68** (3): 404-407.

Schiffman S. S., Rother K. I. (2013) Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **16** (7): 399-451.

Stegink L. D. (1987) The aspartame story: a model for the clinical testing of a food additive. *American Journal of Clinical Nutrition* **46**: 204–215.

Suez J., Korem T., Zilberman-Schapira G., Segal E., Elinav E. (2015) Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: findings and challenges. *Gut Microbes* **6** (2): 149-155.

Sweatman T. W., Renwick A. W. (1980) The tissue distribution and pharmacokinetics of saccharin in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* **55**: 18–31.

Sylvetsky A. C., Jin Y., Clark E. J., Welsh J. A., Rother K. I., Talegawkar S. A. (2017) Consumption of low-calorie sweeteners among children and adults in the United States. *Journal of Academy Nutrition and Dietetics* **117** (3): 441-448.

Takayama S., Renwick A. G., Johansson S. L., Thorgeirsson U. P., Tsutsumi M., Dalgard D. W., Sieber S. M. (2000) Long-term toxicity and carcinogenicity study of cyclamate in nonhuman primates. *Toxicological Science* **53**: 33 – 39.

Toews I., Lohner S., Küllenberg de Gaudry D., Sommer H., Meerpohl J. J. (2019) Association between intake of non-sugar sweeteners and health outcomes: systematic review and meta-analyses of randomised and non-randomised controlled trials and observational studies. *BMJ* **364**: 4718.

Turnbaugh, P. J., Ley R. E., Mahowald M. A., Magrini V., Mardis E. R., Gordon J. I. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**: 1027-1031.

Turnbaugh P. J., Hamady M., Yatsunencko T., Cantarel B. L., Duncan A., Ley R. E., Sogin M. L., Jones W. L., Roe B. A., Affourtit J. P., Egholm M., Henrissat B., Heath A. C., Knight R., Gordon J. I. (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* **457**: 480–484.



Uebanso T., Ohnishi A., Kitayama R., Yoshimoto A., Nakahashi M., Shimohata T., Mawatari K., Takahashi A. (2017) Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients* **9** (6): 560.

Vrieze A., Holleman F., Zoetendal E. G., de Vos W. M., Hoekstra J. B. L., Nieuwdorp M. (2010) The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Obesity and metabolism* **7** (4): 52-53.

WHO (2020) Diabetes. WHO – World Health Organization, <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>>. Pristupljeno 20. travnja 2020.

## **Izjava o izvornosti**

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

\_\_\_\_\_Matea Mihaljević\_\_\_\_\_

ime i prezime studenta