

BEATA SĘKALSKA

## ZAWARTOŚĆ SZTUCZNYCH SUBSTANCJI SŁODZĄCYCH – ASPARTAMU, ACESULFAMU-K I SACHARYNIANU SODU W NAPOJACH DIETETYCZNYCH

### Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości sztucznych substancji słodzących: aspartamu, acesulfamu-K i sacharynianu sodu w ośmiu napojach dietetycznych (w pięciu napojach typu cola, w dwóch energetyzujących i w jednym pomarańczowym), które zakupiono na rynku lokalnym w Szczecinie w pierwszym kwartale 2006 roku. Zawartość badanych związków oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), polegającej na izokratycznym, chromatograficznym rozdzieleniu próbek w kolumnie C18-RP z buforem fosforanowym 0,02 mol/l (pH 4,3) zawierającym 10% (v/v) acetonitrylu, jako fazą ruchomą, oraz detekcji UV.

Zawartość aspartamu, acesulfamu-K i sacharynianu sodu w badanych napojach dietetycznych była poniżej górnych granic ich dozwolonych ilości. Najwyższy poziom aspartamu (585,87 mg/l) i acesulfamu-K (186,13 mg/l) stwierdzono w napojach markowych, które nie zawierały w swoim składzie sacharynianu sodu. Natomiast wysokimi zawartościami sacharynianu sodu charakteryzowało się 75% napojów niemarkowych. Ponadto w jednym z nich nie stwierdzono obecności aspartamu, mimo że był on wymieniony jako jego składnik. W 87,5% badanych produktów zawarty był aspartam i acesulfam-K, a tylko w 50% występował sacharynian sodu.

**Słowa kluczowe:** sztuczne substancje słodzące, aspartam, acesulfam-K, sacharynian sodu, wysokosprawna chromatografia cieczowa

### Wprowadzenie

Dodatki do żywności pełnią istotną rolę we współczesnym przemyśle spożywczym. Generalnie, są one stosowane w celu otrzymania produktu o określonej jakości. Jednocześnie powinny gwarantować bezpieczeństwo zdrowotne żywności. Do związków tych zaliczamy m.in. sztuczne substancje słodzące: aspartam, acesulfam-K i sacharynian sodu. Służą one do wyrobu produktów o zredukowanej energii lub zawartości cukru z przyczyn zdrowotnych. W przemyśle spożywczym oznacza to wydłużony

okres trwałości artykułów żywnościowych w porównaniu z tymi, które zawierają cukier [10, 11].

Produkty spożywcze, do których najczęściej dodawane są substancje słodzące to napoje bezalkoholowe [8, 17, 40]. W zależności od zawartości cukru i środków słodzących dzielą się na trzy grupy. W napojach o obniżonej kaloryczności, w porównaniu z recepturą tradycyjną, cukier zastępuje się do 30% substancją słodzącą, a w napojach niskokalorycznych do 50%. Natomiast napoje dietetyczne nie zawierają w swoim składzie cukru, tylko substancje słodzące [16, 29].

Najszerze zastosowanie w produkcji żywności dietetycznej i niskokalorycznej w ciągu ostatnich kilku lat znalazł aspartam [27]. Jest to ester metylowy L-asparagino-L-feniloalaniny. Związek ten wykazuje słodycz 200 razy przewyższającą słodkość sacharozy, czystą bez metalicznego posmaku [19]. Oprócz słodzenia produktów żywnościowych, charakteryzuje się on również właściwościami utrwalania i wzmacniania aromatów owocowych zwłaszcza cytrusowych [22, 31]. Do uzyskania pożądanej słodyczy produktów potrzebne są minimalne ilości aspartamu, stąd uznawany jest on za środek słodzący bezkaloryczny, mimo iż jego wartość energetyczna wynosi 4 kcal/g [41]. Największą trwałość wykazuje aspartam w roztworach wodnych w zakresie pH 3-5, w którym nie dochodzi do rozkładu tego związku, a tym samym do utraty jego funkcji słodzącej [3, 14, 16].

Acesulfam-K to sól potasowa acetosulfamu – pochodna kwasu octowego [32]. Jest to związek słodszy od cukru 200-krotnie, który daje szybkie odczucie smaku słodkiego, zanikające powoli i utrzymujące się nieco dłużej niż sacharozy. W większych stężeniach pozostawia on gorzki i metaliczny posmak, z tego względu nie stosuje się go indywidualnie, ale w mieszaninach z innymi środkami słodzącymi [26, 34]. Z drugiej strony acesulfam-K wykazuje działanie synergiczne co oznacza, że w połączeniu z innymi substancjami słodzącymi ich łączna siła słodząca jest większa od słodkości poszczególnych substancji [4, 29]. W odróżnieniu od aspartamu, acesulfam-K odznacza się dużą stabilnością w środowisku wodnym. Nie stwierdza się zmian jego zawartości w roztworach wodnych w zakresie pH 3-5, typowym dla napojów bezalkoholowych [5, 6].

Sacharyna to pierwsza sztuczna substancja słodząca wprowadzona do produkcji żywności. Jest to imid kwasu o-sulfobenzoowego, słabo rozpuszczalny w wodzie, dlatego stosuje się jego sól sodową lub wapniową [6, 36]. W porównaniu z aspartamem i acesulfamem-K, sacharynę charakteryzuje znaczna siła słodzenia (300-500 razy słodsza od sacharozy) i niska cena. Pod tym względem zalicza się ją do bardzo ekonomicznym zamienników cukru w napojach bezalkoholowych. Wadą tej substancji słodzącej jest gorzki, metaliczny posmak, który wyczuwa się w miarę zwiększenia stężenia w roztworze [32]. Ten niekorzystny efekt minimalizuje się poprzez mieszanie sacharyny z innymi środkami słodzącymi. W roztworach wodnych o szerokim zakresie pH 3,3-7,0 sacharyna i jej sól sodowa wykazują dużą stabilność [4].

Sztuczne substancje słodzące z uwagi na ich bezkaloryczność są uważane za skuteczne środki w walce z otyłością, nadwagą, a ich stosowanie wspomaga leczenie cukrzycy i próchnicy zębów. Z drugiej strony, jak wynika z przeglądu piśmiennictwa [2, 13, 23, 28] formułowane są opinie na temat ich szkodliwego wpływu na organizmy ludzi i zwierząt.

W przypadku sacharyny wykazano jej działanie nowotworowe, ale tylko w stosunku do jednego gatunku zwierząt (szczurów) i gdy jest ona podawana w wysokich dawkach [37]. U ludzi obserwowano jedynie nieliczne przypadki zatrucia, nieżyty nerek, białkomocz i wysoki poziom mocznika we krwi, utrzymujący się przez lata, a także odczyny alergiczne [2, 25].

Z kolei aspartam w procesie trawienia rozkłada się na kwas asparaginowy, fenyloalaninę i nieznaczne ilości metanolu. Powstająca fenyloalanina nie jest metabolizowana do tyrozyny u ludzi obciążonych genetyczną chorobą fenyloketonurią, uwarunkowaną brakiem enzymu odpowiedzialnego za przemianę tego aminokwasu. U tych osób wysokie stężenia fenyloalaniny oraz jej metabolitów we krwi działają toksycznie oraz mogą prowadzić do nieodwracalnego uszkodzenia mózgu i przedwczesnej śmierci [38]. Dlatego też na każdym opakowaniu jednostkowym produktu zawierającego aspartam musi być umieszczone ostrzeżenie: „zawiera źródło fenyloalaniny” [33]. Ponadto stwierdzono, że po konsumpcji aspartamu mogą wystąpić w organizmie człowieka różne reakcje ze strony układu nerwowego, takie jak: bóle głowy, napady padaczkowe, upośledzenie percepcji, stany podniecenia, frustracji, depresji i ogólnego zaburzenia ustroju [1]. Wykazano również wpływ tej substancji słodzącej na rozwój guza mózgu tylko u jednego gatunku zwierząt – u szczurów [15, 28].

Z kolei acesulfam-K nie jest metabolizowany w organizmie człowieka i ulega wydaleniowi w niezmięnionej postaci z moczem. Natomiast substancja ta może powodować uszkodzenia chromosomów, co w następstwie prowadzi do zmian genetycznych. W badaniu przeprowadzonym na myszach działanie genotoksyczne acesulfamu-K polegało na interakcji tego związku z DNA, która prowadziła do uszkodzenia komórek [23].

Ze względu na fakt stosowania w coraz większym zakresie substancji słodzących w krajowej produkcji środków spożywczych oraz na potencjalną możliwość ich toksycznego działania istnieje konieczność limitowania i monitorowania tych substancji w artykułach spożywczych.

Celem niniejszej pracy była ocena zawartości aspartamu, acesulfamu-K i sacharynianu sodu w napojach dietetycznych dostępnych na rynku szczecińskim.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiło osiem napojów dietetycznych zakupionych w handlu detalicznym w Szczecinie w pierwszym kwartale 2006 r. Produkty te, zgodnie

z informacją umieszczoną na etykietach, zawierały co najmniej dwie z badanych substancji słodzących (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka materiału doświadczalnego.

Experimental sample characteristics.

Napój Beverage	Skład surowcowy Formula	K [kcal/100 ml]	Cena Price zł/l
A*	woda, CO <sub>2</sub> , karmel, aspartam, kwas fosforowy, cytrynian Na, kofeina, kwas cytrynowy, acesulfam K	0,328	4,90
B*	woda, CO <sub>2</sub> , karmel, cyklaminian Na, acesulfam K, aspartam, kwas ortofosforowy, kwas cytrynowy, aromaty, benzoosan Na, kofeina	0,2	4,30
C	woda, CO <sub>2</sub> , karmel, kwas cytrynowy, naturalne wyciągi owocowe i warzywne, aspartam, acesulfam K, sacharynian sodu, kofeina	2,4	3,87
D	woda, CO <sub>2</sub> , E330, E338, aromat naturalny, ekstrakt z orzeszków cola, E150d, E414, kofeina, E211, cyklaminian Na, sacharynian sodu, aspartam, konserwanty chemiczne	Brak danych	0,95
E*	woda, CO <sub>2</sub> , karmel, kwas fosforowy, aspartam, cytrynian Na, acesulfam K, kofeina, kwas cytrynowy	0,22	3,35
F*	woda, CO <sub>2</sub> , cytrynian Na, tauryna, glukuronolakton, acesulfam K, aspartam, kofeina, inozytol, niacyna, kwas pantotenowy, wit. B <sub>6</sub> i B <sub>12</sub> , aromaty, guma ksantanowa, karmel, ryboflawina	3,0	15,25
G	woda, kwas cytrynowy, CO <sub>2</sub> , tauryna, cytrynian Na, cyklaminian sodu, sacharynian sodu, aspartam, acesulfam K, kofeina, aromat identyczny z naturalnym i syntetyczny, karmel, niacyna, ryboflawina, kwas pantotenowy, wit. B <sub>6</sub> i B <sub>12</sub>	2,0	5,97
H	woda, kwas cytrynowy, sok owocowy, aromat, cyklaminian sodu, sacharynian sodu, aspartam, acesulfam K, guma arabska, estry glicerolu i żywicy roślinnej, benzoosan Na, czerwień Allura AC	1,0	0,78

Objaśnienia:/Explanatory notes:

K – kaloryczność napoju deklarowana przez producenta / caloricity of beverage declared by manufacturer; A, B, C, D, E – napoje typu cola / cola beverages; F, G – napoje energetyzujące / energetic beverages; H – napój pomarańczowy / an orange beverage; \* - napój markowy / a branded beverage.

Oznaczenie aspartamu, acesulfamu K i sacharynianu sodu w napojach dietetycznych wykonywano za pomocą chromatografii cieczowej zgodnie z normą PN-EN [30]. Badany napój odgazowywano w łaźni ultradźwiękowej (Ultron) przez 10 min i rozcieńczano 5-krotnie wodą dejonizowaną. Uzyskany roztwór sączone przez sączonek membranowy o wielkości porów 0,45 μm w warunkach próżni i poddawano analizie chromatograficznej (chromatograf cieczowy Perkin Elmer series 200).

W przypadku produktu, który zawierał w swym składzie naturalne wyciągi owocowe i warzywne, odbiałczano go za pomocą roztworów Carreza I ( $K_4[Fe(CN)_6] \times 3 H_2O$ ) i Carreza II ( $ZnSO_4 \times 7 H_2O$ ). Następnie odbiałczony napój sączone dwukrotnie, najpierw przez sączone bibułowy, potem w warunkach próżni, stosując sączone membrany (wielkość porów  $0,45 \mu m$ ) i dozowano w objętości  $10 \mu l$  na szczyt kolumny chromatograficznej RP-C18 ( $220 \times 4,6 mm, 5 \mu m$ ). Analizę chromatograficzną substancji słodzących wykonywano stosując fazę ruchomą złożoną z buforu fosforanowego ( $KH_2PO_4$ ) ( $0,02 mol/l; pH 4,3$ ) i acetonitrylu ( $90:10 v/v$ ), typ elucji – izokratyczny, szybkość przepływu eluentów przez kolumnę chromatograficzną  $1 ml/min$ , temp. pieca  $30^\circ C$  oraz detekcję UV (dł. fali  $220 nm$ ). Każdy badany napój analizowano w trzech powtórzeniach, a wyniki przedstawiono w postaci wartości średniej  $\pm$  odchylenie standardowe. W celu określenia precyzji oznaczenia substancji słodzących w badanych napojach dietetycznych obliczano względne odchylenia standardowe.

W kolejnym etapie badań oznaczano odzysk substancji słodzących i w tym celu z każdego badanego napoju przygotowano dwie próby rozcieńczone 5-krotnie wodą dejonizowaną. Druga próba zawierała dodatkowo znaną ilość wzorca badanej substancji słodzącej. Obliczenia odzysku wykonano zgodnie z poniżej przedstawionym wzorem.

$$R = \frac{C_F - C_P}{C_D} \times 100\%$$

gdzie:

$C_F$  – zawartość substancji słodzącej w badanej próbce, do której dodano znaną ilość wzorca,

$C_P$  – zawartość substancji słodzącej w badanej próbce,

$C_D$  – ilość wzorca substancji słodzącej dodanego do badanej próby.

## Wyniki i dyskusja

W 2002 r. przeprowadzono analizę polskiego rynku produktów bezcukrowych. Wśród 141 takich artykułów stwierdzono obecność 17 napojów gazowanych oraz 8 niegazowanych. Najczęściej występującymi sztucznymi środkami słodzącymi były: aspartam (obecny w 68% badanego asortymentu) i acesulfam K (w 44%). W ponad 1/3 wszystkich produktów substancje te występowały łącznie, a tylko w 6% stwierdzono obecność sacharynianu sodu [18]. Z badań przeprowadzanych rok wcześniej wynika, że takich artykułów było 148. Nie podano jednak, jaką liczbę wśród nich stanowiły napoje. Wyniki tych badań wskazują na występowanie aspartamu w 66% badanych produktów, acesulfamu K w 43%, a sacharyny lub jej soli sodowej w 10% [9].

Szczeciński rynek bezalkoholowych napojów dietetycznych jest bardzo skromny. Stwierdzono występowanie ośmiu rodzaju napojów oznaczonych jako „light”, „sugar

free” lub „diet”. Wśród badanych produktów tylko jeden był napojem o smaku owocowym (pomarańczowym). Pozostałe to dwa napoje energetyzujące i pięć o smaku cola. Napoje ostatniego typu, wg Mazura [21], stanowią 38% sprzedaży ilościowej i 50% wartościowej wszystkich napojów, a 40% z nich produkowanych jest w wersji bezcukrowej.

Tabela 2

Zawartość aspartamu, acesulfamu-K i sacharynianu sodu w napojach dietetycznych.  
Aspartame, acesulfame-K and sodium saccharin content in dietetic beverages.

Napój Beverage	Aspartam Aspartame			Acesulfam-K Acesulfame-K			Sacharynian sodu Sodium saccharin		
	$\bar{x} \pm SD$ [mg/l]	RSD [%]	R [%]	$\bar{x} \pm SD$ [mg/l]	RSD [%]	R [%]	$\bar{x} \pm SD$ [mg/l]	RSD [%]	R [%]
A*	585,87 ± 2,78	0,47	97,5	39,37 ± 0,12	0,29	95,0	-	-	-
B*	349,33 ± 1,56	0,45	101,2	119,83 ± 0,87	0,73	95,0	-	-	-
C	91,80 ± 1,41	1,54	86,0	87,23 ± 0,21	0,24	82,0	45,10 ± 0,36	0,80	83,0
D	48,17 ± 0,58	1,12	106,0	-	-	-	65,70 ± 0,69	1,05	96,0
E*	104,3 ± 1,23	1,08	103,0	92,23 ± 0,31	0,33	98,7	-	-	-
F*	97,63 ± 0,59	0,60	84,0	186,13 ± 0,40	0,22	86,8	-	-	-
G	ns	ns	ns	27,03 ± 0,50	1,86	83,5	71,53 ± 0,21	0,29	85,3
H	34,83 ± 0,46	1,33	87,0	59,70 ± 0,46	0,77	82,5	77,13 ± 1,85	2,40	83,7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia z 3 pomiarów / mean value of three measurements; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; RSD – względne odchylenie standardowe / relative standard deviation; R – odzysk / recovery; ns – nie stwierdzono / not detected; (-) – nieobecny w napoju / absent in a beverage.

Pozostałe objaśnienia jak w tab. 1 / Other explanations as In table 1

Sacharynian sodu występował w 50% badanych napojów dietetycznych (tab. 2). Jednak najczęściej stosowanymi środkami słodzącymi były aspartam i acesulfam K. Ich obecność stwierdzono w siedmiu artykułach, co stanowi 87,5% badanego asortymentu. W sześciu napojach (75% materiału badawczego) te dwa środki słodzące występowały razem. Potwierdza to fakt, że producenci często wykorzystują efekt synergiczny tych substancji. Mieszanina aspartamu i acesulfamu K jest ok. 300 razy słodsza

od sacharozy, a każdy z nich stosowany osobno wykazuje słodkość o wartości najwyższej 200 [4].

W żadnym z ośmiu badanych w niniejszej pracy produktów nie została przekroczona dopuszczalna, maksymalna zawartość sztucznych substancji słodzących. W napoju A\* typu cola oznaczona ilość aspartamu (587,85 mg/l) stanowiła ok. 98% dopuszczalnego jego poziomu, który wynosi 600 mg/l. Producent, zgodnie z hasłem reklamowym tego produktu: „maksimum smaku, zero cukru”, chciał uzyskać słodcy jak najbardziej zbliżoną do artykułu słodzonego cukrem [31]. Spośród trzech badanych substancji słodzących aspartam ma smak najbardziej zbliżony do słodczy sacharozy. Jednocześnie jest najdroższy z tej grupy słodzików, co ma wpływ na wysoką cenę tego artykułu. Była ona bowiem najwyższa z cen badanych produktów typu cola. W napoju A\* występowały tylko dwa słodziki. Ilość drugiego - acesulfamu K (należący również do grupy drogich substancji słodzących) była mała i wynosiła jedynie 39,37 mg/l, co może tłumaczyć fakt tak wysokiej zawartości aspartamu.

Proporcje dodanych słodzików oraz ich ilość wpływają znacząco na smak napoju. Waszkiewicz-Robak i Świdorski [35] podają, że przeciętna zawartość aspartamu w napojach wynosi od 400 do 800 mg/l. Jednak najbardziej pożądaną słodcy, określaną w skali hedonicznej pomiędzy „dość słodki” a „słodki”, wykazują roztwory aspartamu o stężeniach ok. 400 mg/l. Według Krygiera [19], w napojach typu cola przeciętna zawartość aspartamu wynosi 550-680 mg/l, a w napojach pomarańczowych 550-900 mg/l. Górne wartości tych poziomów znacznie przekraczają jego dopuszczalną zawartość w tych produktach.

Maksymalna, dopuszczalna ilość acesulfamu-K w napojach bezalkoholowych wynosi 350 mg/l. Najwyższą jego zawartość 186,13 mg/l (co stanowi ok. 53% normy) oznaczono w napoju energetyzującym F\*, natomiast najniższą (27,03 mg/l) w napoju energetyzującym G.

Z kolei ilość sacharynianu sodu zbliżoną do najwyższej, dopuszczalnej jej wartości (80 mg/l) stwierdzono w dwóch produktach tj. w napoju G (71,53 mg/l, co stanowi 89,4% normy) i w napoju pomarańczowym (77,13 mg/l, tj. 96,4% normy). W porównaniu z aspartamem i acesulfamem K, sacharynę charakteryzuje najmniejsza dopuszczalna jej zawartość w napojach bezalkoholowych. Wynika to m.in. z faktu, że słodzik ten wśród badanych substancji słodzących wyróżnia się najwyższą słodkością.

Rodzaj oraz ilość środków słodzących, stosowanych jako dodatki do napojów, ma duży wpływ na cenę tych produktów. Najniższą ceną charakteryzowały się te napoje dietetyczne, w których stwierdzono najmniejszą zawartość aspartamu (w napoju D i napoju pomarańczowym). Wiele znanych firm wprowadza na rynek produkty tańsze w momencie, gdy ich dotychczasowy asortyment sprzedaje się gorzej. W ich recepturach znajdują wtedy zastosowanie słodziki tańsze, jak sacharyna, a producenci nie starają się nawet zniwelować jej gorzkiego, metalicznego posmaku [4, 7].

Napój D nie zawierał acesulfamu K, a ilość aspartamu była w nim niewielka. Natomiast oznaczona zawartość sacharynian sodu wynosiła 65,7 mg/l, która stanowiła ponad 82% obowiązującej jego normy. Cena tego napoju była bardzo niska i wynosiła 0,95 zł/l. Jednak najniższą ceną (0,78 zł/l) charakteryzował się napój pomarańczowy. Zawierał on najmniej aspartamu ze wszystkich badanych produktów, bo jedynie 34,83 mg/l. Ilość acesulfamu K (59,70 mg/l) była również niewielka. Natomiast w tym napoju stwierdzono najwyższą zawartość sacharynianu sodu, która wynosiła 77,13 mg/l.

W opinii Bogacza [7], w dietetycznych napojach o wyższej cenie najczęściej spotykanymi sztucznymi substancjami słodzącymi są aspartam i acesulfamu K, co potwierdzają wyniki niniejszego badania. Ponadto napoje markowe wyróżnia lepszy smak, gdyż w tym przypadku producenci minimalizują metaliczny posmak, pochodzący od sztucznych substancji słodzących.

Według informacji podanej na etykiecie badane produkty dietetyczne charakteryzowały się niską kalorycznością wynoszącą od 0,2 do 3,0 kcal/100 ml. Jak podaje Krygier [19], napoje słodzone tylko substancjami słodzącymi powinny wykazywać ok. 0,28 kcal/100 ml. Dla porównania: napój słodzony cukrem ma ok. 41 kcal/100 ml. Według danych firmy NurtaSweet przeciętna zawartość aspartamu w produktach wynosi ok. 500 mg/l. Ze względu na białkowy charakter tego związku, stanowi to jedynie 2 kcal i nadaje słodycz zbliżoną do artykułu słodzonego cukrem, który zawiera 400 kcal. W związku z tym jedna puszka napoju dietetycznego ma mniej niż 1 kcal [31].

Do oznaczenia zawartości substancji słodzących w napojach, szczególnie aspartamu i jego głównego produktu hydrolizy – fenyloalaniny, najczęściej stosuje się wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją spektrofluorometryczną. Wróbel i Wróbel [39] stosując tę metodę, w napoju „Diet cola” wykazali zawartość aspartamu na poziomie  $492,5 \pm 5,4$  mg/l. Natomiast w próbkach wzbogaconych o 200 i 400 mg wzorca, zawartość tej substancji wzrosła odpowiednio do wartości  $682,5 \pm 6,9$  mg/l i  $872,5 \pm 8,1$  mg/l. Z kolei, badając napój „Diet pepsi” badacze ci oznaczyli w nim  $494,1 \pm 6,7$  mg/l aspartamu. Po wzbogaceniu próbki 200 mg wzorca, ilość jego wzrosła do  $679,2 \pm 7,7$  mg/l, a po dodaniu 400 mg standardu do  $875,2 \pm 9,0$  mg/l. Wróbel i Wróbel [39] uzyskali wysoką precyzję swoich pomiarów RSD 1%, a oznaczony przez nich odzysk aspartamu w wyżej wymienionych produktach był w zakresie 95-98%. W badaniach własnych wartość odzysku tej substancji słodzącej w napojach dietetycznych wynosiła od 84 do 106%, a precyzja tych pomiarów uzyskała najniższą wartość RSD 0,45% w napoju B\*, a najwyższą RSD 1,54% w napoju C.

Dodatkowo Wróbel i Wróbel [39] oznaczyli zawartość aspartamu i fenyloalaniny w napojach dietetycznych (cola i pepsi), porównując metodę HPLC z detekcją spektrofotometryczną i spektrofluorometryczną. Badacze ci wykonali pięć pomiarów napoju pobranego z tej samej puszkii coli dietetycznej. Przy użyciu detekcji spektrofluorometrycznej zawartość aspartamu w tym napoju wyniosła  $492,5 \pm 5,4$  mg/l, natomiast sto-



sując detekcję spektrofotometryczną uzyskali wynik wyższy o 3,2 mg, tj.  $495,7 \pm 6,2$  mg/l. Podczas pomiarów, w których pobrali próbki z pięciu różnych puszek tego napoju uzyskali następujące wyniki: przy wykorzystaniu detekcji spektrofluorometrycznej  $494,3 \pm 9,7$  mg/l, a spektrofotometrycznej  $496,3 \pm 11,1$  mg/l.

Badacze ci oznaczali również zawartość aspartamu w pepsii dietetycznej. W analizie, w której pobierali pięć próbek z tej samej puszki, zawartość aspartamu, analogicznie jak w przypadku coli dietetycznej, była wyższa przy użyciu detekcji spektrofotometrycznej ( $497,3 \pm 7,8$  mg/l), w porównaniu z detekcją spektrofluorometryczną ( $494,1 \pm 6,7$  mg/l). Z kolei pobierając próbki z pięciu różnych puszek tego napoju zaobserwowali oni również wyższy poziom aspartamu podczas badania z użyciem detekcji spektrofotometrycznej ( $495,1 \pm 13,3$  mg/l), niż w przypadku analizy spektrofluorometrycznej ( $492,7 \pm 2,0$  mg/l). Wróbel i Wróbel [39] wykazali, że detekcja spektrofluorometryczna charakteryzuje się wyższą precyzją w porównaniu z detekcją spektrofotometryczną oraz zwiększa ona czułość analizy i czyni ją również bardziej specyficzną i selektywną.

Z kolei Gibbs i wsp. [12] oznaczyli zawartości aspartamu w produktach żywnościowych metodą HPLC-RP (chromatograf Hewlett-Packard 1090) oraz przy użyciu chromatografii jonowymiennej (IEC) (wysokosprawny analizator aminokwasów Beckman 6300). Następnie uzyskane wyniki porównali z wartościami oznaczeń przeprowadzonych przez Mulchandani i wsp. [24] za pomocą biosensorów.

Jednym z badanych przez nich artykułów była pepsia dietetyczna, w której producent deklarował obecność 550 mg/l aspartamu. W badaniu z wykorzystaniem HPLC poziom tej substancji wynosił  $550,0 \pm 5,0$  mg/l, a w analizie za pomocą IEC  $530,0 \pm 5,0$  mg/l. W tym samym produkcie Mulchandani i wsp. [24] oznaczyli aspartam w ilości 580,0 mg/l. Wyniki Gibbs i wsp. [12] wykazały, że poziom słodzika oznaczony metodą HPLC był zgodny z deklarowanym przez producenta oraz że metoda ta jest szybka, dokładna i charakteryzuje się dużą powtarzalnością. W związku z powyższym może być stosowana w rutynowych analizach i kontrolach jakości produktów zawierających aspartam.

Kolejne substancje słodzące, acesulfam-K i sacharynian sodu oznaczyli Lehkoživova i wsp. [20] za pomocą metody izotachoforezy kapilarnej (ITP). Materiał badawczy stanowiły napoje bezalkoholowe dostępne na rynku czeskim i słowackim. Najwyższą zawartość acesulfamu-K 189,19 mg/l badacze ci uzyskali w napoju cola-cola light, a najniższą 1,65 mg/l w napoju kolča (flavour cola). Wartości względnych odchyłeń standardowych tych pomiarów mieściły się w przedziale 0,05-2,84%. W przypadku sacharynianu sodu również napój kolča (flavour cola) zawierał jego najniższą ilość 4,86 mg/l (co stanowi 6,11% normy), natomiast najwyższą zawartość tej substancji słodzącej 73,13 mg/l (tj. 91,41% normy) oznaczono w napoju senza – l'adovÿ čaj ci-

trón (lemon ice tea). Pomiary te wykonano z precyzją, której wartości RSD były w zakresie 0,18-4,75%.

Natomiast w badaniach własnych precyzja oznaczenia acesulfamu-K i sacharynianu sodu w napojach dietetycznych uzyskała wartości RSD odpowiednio w przedziałach 0,22-1,86% i 0,29-2,40%. Wykonane odzyski tych substancji miały zbliżone wartości i wynosiły w przypadku acesulfamu-K 82,5-98,7%, a sacharynianu sodu 83-96%. Uzyskane wyniki wskazują, że metoda chromatografii cieczowej, w porównaniu z izotachoforezą kapilarną, charakteryzuje się lepszą precyzją oraz bardzo dobrą dokładnością i, jak w przypadku aspartamu, może być ona stosowana do rutynowej analizy żywności, zawierającej wyżej wymienione substancje słodzące.

### Wnioski

1. Oznaczone zawartości aspartamu, acesulfamu K i sacharynianu sodu w badanych napojach dietetycznych były poniżej górnych granic dozwolonych ich ilości.
2. Najwyższą ilość aspartamu i acesulfamu-K stwierdzono w napojach markowych, które nie zawierały w swoim składzie sacharynianu sodu.
3. Wysoka zawartość sacharynianu sodu charakteryzowała 75% badanych napojów niemarkowych. Ponadto w jednym z nich nie stwierdzono obecności aspartamu, mimo iż był wymieniony jako jego składnik.
4. Obecność aspartamu i acesulfamu-K stwierdzono w składzie 87,5% badanego asortymentu, a tylko w 50% występował sacharynian sodu.

*Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.*

### Literatura

- [1] American Dietetic Association: Position of the American Dietetic Association: Use of Nutritive and nonnutritive sweeteners. J. Am. Diet. Assoc., 2004, **2**, 255-275.
- [2] Arnold D.L.: Toxicology of saccharin. Fundam. Appl. Toxicol., 1984, **4 (5)**, 674-685.
- [3] Bogacz A., Lewczuk A.: Intensywne substancje słodzące - szansa dla polskiego producenta i konsumenta (1). Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2002, **4**, 15-16.
- [4] Bogacz A., Lewczuk A.: Intensywne substancje słodzące - szansa dla polskiego producenta i konsumenta (2). Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2002, **5**, 14-15.
- [5] Bogacz A.: Intensywne substancje słodzące - szansa dla polskiego producenta i konsumenta (4). Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2002, **7-8**, 60.
- [6] Bogacz A.: Intensywne substancje słodzące - szansa dla polskiego producenta i konsumenta (5). Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2002, **9**, 19-20.
- [7] Bogacz A.: Napoje na słodzikach - ekonomia, marketing czy zdrowie? Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2002, **4**, 23.

- [8] Bogacz A.: Środki słodzące - harmonizacja prawa i zastosowań w Europie. *Przem. Spoż.*, 1996, **2**, 43-44.
- [9] Bortkun O.: Sacharydy i substancje słodzące w produkcji żywności (3). *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2002, **5**, 16.
- [10] Chen Q., Mou S., Liu K., Yang Z., Ni Z.: Separation and determination of four artificial sweeteners and citric acid by high-performance anion-exchange chromatography. *J. Chromat. A.*, 1997, **771**, 135-143.
- [11] Chen Q., Wang J.: Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography. *J. Chromat. A.*, 2001, **937**, 57-64.
- [12] Gibbs B., Intez A., Mulligan C.: Simple and rapid HPLC methods for the determination of aspartame and its metabolites in foods. *J. Chromat. A.*, 1996, **752**, 372-377.
- [13] Goerss A.L., Wagner C.G., Hill W.L.: Acute effects of aspartame on aggression and neurochemistry of rats. *Life Sci.*, 2000, **67**, 1325-1329.
- [14] Homler B.E.: Properties and stability of aspartame. *Food Technol.*, 1984, **7**, 50-55.
- [15] Ishii H.: Incidence of brain tumors in rats fed aspartame. *Toxicol. Lett.*, 1981, **7**, 433-437.
- [16] Jędrzejczyk H.: Składniki recepturowe napojów bezalkoholowych na rynku polskim. *Przem. Spoż.*, 1996, **2**, 13-15.
- [17] Karczmarz A.: Napoje - nowe możliwości. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2002, **2**, 2-3.
- [18] Krygier K., Jasiński J.: Polski rynek produktów bezcukrowych. *Przem. Spoż.*, 2002, **5**, 14-16.
- [19] Krygier K.: Możliwości stosowania sztucznego środka słodzącego aspartamu do produkcji żywności niskokalorycznej. *Przem. Spoż.*, 1992, **2**, 37-39.
- [20] Lehkoživová J., Karovičová J., Kohajdová M.S., Šimonová I.: Isotachophoretic analysis of the artificial sweeteners and time-intensity sweetness evaluation of soft drinks. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **3 (48)**, 76-85.
- [21] Mazur P.: Rynek soków i napojów w Polsce. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2003, **9**, 11.
- [22] Modzelewska J., Mączyńska D.: Aspartam – nowy środek słodzący dopuszczony w Polsce do produkcji żywności dietetycznej. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1991, **4**, 16-17.
- [23] Mukherjee A., Chakrabarti J.: *In vivo* cytogenic studies on mice exposed to acesulfame K - a non-nutritive sweetener. *Food Chem. Toxicol.*, 1997, **35**, 1177-1179.
- [24] Mulchandani A., Male K.B., Luong J.H.T., Gibbs B.F.: Enzymatic assay technique for the determination of aspartame. *Anal. Chim. Acta*, 1990, **234**, 465-469.
- [25] Nikonorov M., Urbanek-Karłowska B.: Toksykologia żywności. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1987, s. 234-237.
- [26] Nutrinova: Sunett: bezpieczny acesulfam K Nutrinovy - Artykuł techniczny. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2002, **6**, 20-21.
- [27] Okolska G., Skrzypek B.: Substancje słodzące zastępujące cukier w polskim przemyśle spożywczym. *Bezpieczna Żywność*, 1996, **1-2**, 24-27.
- [28] Olney J., Farber N.B., Spitznagel E., Robins L.N.: Increasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? *J. Neuropathol. Explor. Neurol.*, 1997, **56(1)**, 107-109.
- [29] Owczarek L., Jasińska U., Mączyńska D., Zdziennicka D.: Acesulfam K oraz walory kompozycji słodzącej z jego udziałem w zastosowaniu do soków przecierowych i napojów. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 1996, **5**, 24-25.
- [30] PN-EN 12856: 2002. Artykuły żywnościowe. Oznaczenie zawartości acesulfamu-K i sacharyny. Metoda chromatografii cieczowej.
- [31] Pomianowski W.: NutraSweet, przekonajmy się, co możemy razem osiągnąć. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 1998, **4**, 3-4.
- [32] Pordąb Z.: Charakterystyka sztucznych środków słodzących. *Przeł. Gastr.*, 1996, **6**, 16-17.

- [33] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. Dz. U. 2004 r., Nr 94, poz. 933.
- [34] Schiffam S., Crofton V., Beeker T.: Sensory evaluation of soft drinks with various sweeteners. *Physical Behav.*, 1985, **34**, 369-377.
- [35] Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Wybrane właściwości funkcjonalne substancji intensywnie słodzących. *Przem. Spoż.*, 2000, **4**, 24-35.
- [36] Waszkiewicz-Robak B.: Słodysz pod kontrolą. *Przegl. Gastr.*, 2002, **1**, 10-11.
- [37] Whysner J., Williams G.: Saccharin mechanistic data and risk assessment: urine composition, enhanced cell proliferation and tumor promotion. *Pharmacol. Therapy*, 1996, **71(1/2)**, 225-252.
- [38] Wilska-Jeszka J.: Środki słodzące – ich charakterystyka oraz aspekty zdrowotne. *Przem. Spoż.*, 2002, **3**, 28-32.
- [39] Wróbel K., Wróbel K.: Determination of aspartame and phenylalanine in diet soft drinks by HPLC with direct spectrofluorometric detection. *J. Chromatogr. A.*, 1997, **733**, 163-168.
- [40] Zaremba R.: Dokąd zmierza europejski rynek napojów? *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2004, **7-8**, 20.
- [41] Zdziennicka D., Jasińska U.: Produkty owocowe słodzone aspartamem. *Przem. Spoż.*, 1995, **3**, 97.

#### ARTIFICIAL SWEETENERS: ASPARTAME, ACESULFAME-K AND SODIUM SACCHARIN CONTENT IN DIETETIC BEVERAGES

##### S u m m a r y

The objective of the research was determination of artificial sweeteners: aspartame, acesulfame-K and sodium saccharin in eight dietetic beverages (five diet colas, two energetic drinks and one orange beverage) which were purchased from local market in Szczecin in the first three months of 2006. The content of the sweeteners in beverages were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). This procedure was based on isocratic, chromatographic separation on reversed-phase column C18 with phosphate buffer solution 0,02 mol/l (pH 4,3) containing 10 % (v/v) acetonitrile as the mobile phase, and ultra-violet (UV) absorbance detection.

Aspartame, acesulfame-K and sodium saccharin content were below the upper limits of their permitted norms for soft drinks in determined dietetic beverages. The highest levels of aspartame (585,87 mg/l) and acesulfame-K (187,13 mg/l) were detected in branded beverages, which did not contain in their composition sodium saccharin. Whereas 75% non-branded beverages were characterized by high content of sodium saccharin. Moreover, the presence of aspartame in one of them was not noticed, although the sweetener was numbered as an ingredient in this product. In about 87,5% of products under study aspartame and acesulfame-K were identified while only 50% of the ones contained sodium saccharin.

**Key words:** artificial sweeteners, aspartame, sodium saccharin, acesulfame-K, high-performance liquid chromatography ☒