

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Nízko- a neenergetická sladidla**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Lenka Trnková**

**Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.**

© 2016 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Nízko- a neenergetická sladidla" jsem vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a jiných informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury. Jako autorka této bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce, především za cenné rady a připomínky při zpracování této práce.

# Nízko- a neenergetická sladidla

## Souhrn

Nízko- a neenergetická sladidla jsou látky, které zajišťují potravinám sladkou chuť. Již z názvu vyplývá, že mají menší či žádnou energetickou hodnotu a obvykle se vyznačují vyšší sladivostí než sacharóza. Z tohoto důvodu jsou užívána hlavně při onemocnění diabetes mellitus, redukci obsahu energie v potravinách a ochraně před zubním kazem.

Přírodní sladidla byla objevena již v dávné minulosti, při hledání obživy. Za zmínku stojí například stévie, která byla užívána indiány před dobytím Jižní Ameriky. Avšak historie syntetických sladidel není příliš významná, jelikož převážně souvisí s porušováním správného chování v laboratoři. Tímto způsobem byl jako první objeven sacharin v roce 1878.

Sladidla jsou součástí potravinářských přídatných látek, které jsou do potravin přidávány záměrně. V potravinách mohou upravovat senzorické vlastnosti nebo prodloužit trvanlivost. V Evropské unii je ke každému schválenému sladidlu přiřazen tzv. E-kód, který je součástí etiket.

Sladidla lze rozdělit podle původu, nutriční hodnoty a chemické struktury. Tato bakalářská práce pojednává o nízko- a neenergetických sladidlech, která mohou být syntetického i přírodního původu. Pro zmíněná neenergetická syntetická sladidla je typické, že obsahují méně než 21 kJ na porci. Jedná se o vysoce intenzivní látky, které dosahují mnohonásobně vyšší sladivosti než sacharóza. Hlavními zástupci jsou sacharin, cyklamát, acesulfam K, sukralóza, aspartam a jeho deriváty. Z nízko- či neenergetických přírodních sladidel lze zmínit erythritol, D-tagatózu, threalózu, neohesperidin dihydrochalkon, steviosid a thaumatín.

Existuje celá řada omezení, která jsou potvrzena odbornými výzkumy. Například pacienti trpící onemocněním diabetes mellitus by měli užívat zejména synteticky vyrobená sladidla, jelikož zde nemusí připočítávat energetickou hodnotu.

I když v některých státech jsou určitá sladidla zakázána, z hodnocení bezpečnosti vyplývá, že při dodržování doporučeného denního dávkování nedochází k nežádoucím vedlejším účinkům, a proto lze sladidla považovat za bezpečná.

**Klíčová slova:** nízkoenergetická sladidla, neenergetická sladidla, sacharin, stévie, cyklamát, aspartam

# Low- and nonenergy sweeteners

## Summary

Low- and no-calorie sugar substitutes are compounds that provide food with its sweet taste. As the term suggests, they have lower or no food energy and usually are characterized by higher sweetness than sucrose. For that reason, these substances are especially used during the treatment of diabetes mellitus, to reduce the energy content of food or in prevention of dental caries.

Natural sweeteners were discovered a long time ago, during the search for sustenance. For example Stevia was used by South American Natives even before the European conquest of the territory. However, the history of artificial sweeteners is not too significant, because it relates to breaking the laboratory rules. That is how saccharin was invented in 1878. Sugar substitutes are added to food on purpose, adjusting the taste or extending the shelf life of foods. In the EU, every approved sweetener has got an “E-code“, which is displayed on the label.

Sugar substitutes can be grouped according to their origin, their nutrition value or their chemical structure. This thesis discusses low- and no-calorie sugar substitutes that can be synthetic or natural. Mentioned synthetic sweeteners typically contain less than 21 kJ per portion. These intensive food additives possess many times the sweetness of sucrose. The main representatives of this group are saccharin, cyclamate, acesulfame K, sucralose and aspartame with its derivatives. The group of natural sugar substitutes consists of substances like erythritol, D-tagatose, trehalose, neohesperidin dihydrochalcone, stevioside and thaumatin.

There are some limitations confirmed by expert studies. For example, patients suffering from diabetes mellitus should mainly use synthetic sweeteners, because of their low nutritional value.

Even though in some states certain sweeteners are forbidden, safety studies say that there are no adverse effects, if the recommended daily intake is respected. Sugar substitutes, therefore, can be considered safe.

**Keywords:** lowenergy sweeteners, nonenergy sweeteners, saccharin, stevia, cyclamate, aspartame

## Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární přehled .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Co jsou to sladidla .....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Legislativa sladidel .....</b>	<b>10</b>
<b>3.3 Historie nízko- a neenergetických sladidel .....</b>	<b>12</b>
<b>3.4 Rozdělení nízko- a neenergetických sladidel .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4.1 Syntetická sladidla .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4.1.1 Sacharin.....</b>	<b>14</b>
<b>3.4.1.2 Cyklamát .....</b>	<b>16</b>
<b>3.4.1.3 Acesulfam K .....</b>	<b>19</b>
<b>3.4.1.4 Aspartam a jeho deriváty .....</b>	<b>20</b>
3.4.1.4.1 Neotam.....	22
3.4.1.4.2 Advantam.....	23
3.4.1.4.3 Alitam .....	24
<b>3.4.1.5 Sukralóza.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.2 Přírodní sladidla.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.2.1 Sacharidy .....</b>	<b>27</b>
3.4.2.1.1 Erythritol.....	27
3.4.2.1.2 Tagatóza.....	29
3.4.2.1.3 Trehalóza .....	29
<b>3.4.2.2 Glykosidy .....</b>	<b>31</b>
3.4.2.2.1 Neohesperidin dihydrochalkon .....	31
3.4.2.2.2 Steviosid .....	32
<b>3.4.2.3 Protein .....</b>	<b>35</b>
3.4.2.3.1 Thaumatin .....	35
<b>3.5 Metody stanovení .....</b>	<b>36</b>

<b>3.6</b>	<b>Zdravotní omezení.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6.1</b>	<b>V těhotenství.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6.2</b>	<b>U dětí.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6.3</b>	<b>U diabetu .....</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>Seznam literatury.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>Seznam zkratk.....</b>	<b>45</b>

# 1 Úvod

Tématem této bakalářské práce jsou nízko- a neenergetická sladidla. Pro neenergetické sladce chutnající látky je charakteristické, že obsahují méně než 21 kJ na porci. Do této skupiny sladidel patří zejména synteticky vyrobená a malá část přírodních sladidel.

Potravinářské přídatné látky neboli aditiva jsou celosvětově rozebíraným tématem z ohledu prospěšnosti na lidské zdraví. Éčka jsou do potravin přidávána záměrně z mnoha důvodů, jako je vylepšení chuti, textury či prodloužení trvanlivosti. Jsou součástí složení na etiketách, což může konzumenta z důvodu nedostatečných či zavádějících informací odradit.

Bakalářská práce obsahuje teoretickou část, která vymezuje hlavní zástupce sladidel. Cílem bakalářské práce je poskytnout základní informace, jako je historie, sladivost, přijatelné denní množství či porovnání studií týkající se zdravotní nezávadnosti.



## **2 Cíl práce**

Cíl bakalářské práce je sestavit na základě odborné literatury literární přehled dělení sladidel dle energetické hodnoty. Vytvořit přehled metod možných stanovení nejdůležitějších nízko- a neenergetických sladidel.

## 3 Literární přehled

### 3.1 Co jsou to sladidla

Sladidla jsou látky, které poskytují potravinám sladkou chuť. Obvykle mívají vyšší sladivost než sacharóza a zároveň menší energetickou hodnotu. Náhradní sladidla, též nazývána náhražky cukru, mohou být synteticky vyrobená nebo přírodního původu. (Račická, 2012)

Jednou skupinou náhradních sladidel jsou sloučeniny intenzivně sladké, kde i stopové množství může nahradit velké množství cukru. Odborníci je nazývají intenzivní nebo nízkokalorická sladidla. Druhá skupina sladidel zahrnuje látky podobající se svou sladivostí sacharóze, proto jsou přidávány do potravin či nápojů prakticky v totožném množství. Tato sladidla jsou nazývána objemovými, pro které je typické zvyšování glykémie. Hlavními zástupci jsou přírodní látky a jejich deriváty. (Čopíková et al., 2013)

Výrobci často daná sladidla kombinují. Jedním z hlavních důvodů je dosažení vyšší sladivosti a snaha přiblížit se chuti podobné cukru. Dalším důvodem je minimalizování nežádoucí pachuti, která je pro uměle vyrobená sladidla typická. (Vrbová, 2001)

Existuje celá řada důvodů, proč se náhradní sladidla užívají. Mezi ty nejčastější patří onemocnění diabetes mellitus, redukce obsahu energie v potravinách, ochrana před zubním kazem a bývají levnější než cukry. (Račická, 2012)

### 3.2 Legislativa sladidel

Sladidla patří mezi potravinářské přídatné látky, které jsou přidávány do potravin zcela záměrně. Mohou prodloužit trvanlivost či napomáhat různým sensorickým vlastnostem. V rámci Evropské unie jsou všechny přídatné látky označovány E-kódem. Vyskytují se na etiketách, jako součást složek potravin. (Nařízení č. 1333, 2008)

Dle Ministerstva zemědělství jsou tedy E-kódem označeny přídatné látky v EU, které lze použít do potravin. Jsou sestaveny z písmene E a tří- až čtyřmístného čísla. Jsou řazeny systematicky dle účelu jejich použití. Sladidla začínají obvykle číslem 9. Jelikož ČR patří do Evropské unie, řídí se tedy jejími zákony. Zákony o sladidlech mimo EU jsou často rozdílné. Například v USA je cyklamát zakázaný a Neotam má zde status GRAS. (Ministerstvo zemědělství, 2004)

Legislativa sladidel je dána vyhláškou č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě surovin § 7.

Paragraf sedm říká, že sladidla povolená při výrobě potravin či skupině potravin, v nichž se mohou vyskytovat, a další podmínky použití sladidel, stanovuje příloha č. 5. (Vyhláška č. 4/2008 Sb., 2008)

Další zmínky o náhradních sladidlech lze najít v nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. Zde jsou definovány zvláštní podmínky pro náhradní sladidla. Platí, že potravinářskou přídatnou látku lze zařadit na seznam Společenství v příloze II, do funkční třídy náhradních sladidel pouze tehdy, pokud kromě toho, že slouží jednomu nebo více účelům podle článku 6, odstavce 2, slouží jednomu nebo více z daných účelů.

- a) náhrada cukrů pro produkci potravin se sníženým energetickým obsahem, potravin, které chrání před zubním kazem a potravin bez přidaných cukrů
- b) náhrada cukrů v případech, kdy toto nahrazení umožňuje zvýšení trvanlivosti potravin
- c) pro produkci potravin určených pro speciální výživu ve smyslu definice v čl. 1, odst. 2, písm. a) směrnice 89/398/EHS (touto vyhláškou)

Na obalu určenému k prodeji konečnému spotřebiteli musí být uveden název sladidla nebo číslo označení, včetně dalších údajů, která jsou důležitá z hlediska zdravotní nezávadnosti potravin.

Jedná se především o tyto údaje:

1. obchodní označení stolního sladidla musí obsahovat slova „...stolní sladidlo na bázi...“ s uvedením názvu či názvů náhradního sladidla nebo sladidel v jeho složení
2. stolní sladidlo obsahující aspartam nebo sůl aspartamoacesulfamu musí obsahovat upozornění: „obsahuje zdroj fenylalaninu“
3. stolní sladidlo obsahující polyalkohol musí obsahovat upozornění: „při nadměrné spotřebě může způsobit projímavé účinky“ (Nařízení č. 1333/2008)

Dále musí být stanovena hodnota ADI. Jedná se o přijatelnou denní dávku náhradního sladidla, která může být konzumována denně po dobu života, aniž by ohrozila zdraví konzumenta. Stanovuje se v miligramech na kilogram tělesné hmotnosti za den. (Račická, 2012)

Seznam vybraných neenergetických a nízkenergetických povolených přídatných látek v ČR i EU pro použití do potravin dle Státního zdravotního ústavu. (aktualizováno 9. 2. 2012)

<b>Kód</b>	<b>Látka</b>	<b>Funkce</b>
E950	Acesulfam K	Sladidlo, látka zvýrazňující chuť
E951	Aspartam	Sladidlo, látka zvýrazňující chuť
E952	Cyklamová kyselina a jeho sodná, draselná a vápenatá sůl	Sladidlo
E954	Sacharin a jeho sodná, draselná a vápenatá sůl	Sladidlo
E955	Sukralóza	Sladidlo
E957	Thaumatín	Sladidlo, látka zvýrazňující chuť
E959	Neohesperidin DC	Sladidlo
E960	Steviol-glykosidy	Sladidlo
E961	Neotam	Sladidlo
E968	Erythritol	Sladidlo, látka zvýrazňující chuť, emulgátor, zahušťovadlo, zvlhčující látka, nosič, sekvestrant

### 3.3 Historie nízko- a neenergetických sladidel

Nízko- a neenergetická sladidla zahrnují zejména synteticky vyrobené, jejichž historie není příliš významná, jelikož je převážně spjata s porušováním pravidel správného chování v chemické laboratoři. Tímto způsobem byl jako první objeven sacharin v roce 1878. (Nabors, 2001) Avšak mezi nízko- a neenergetická sladidla patří i malá část přírodních, která byla objevena již při hledání potravy, tudíž doprovází lidstvo po celou jeho známou historii. Mezi tato přírodní sladidla patří některé glykosidy či proteiny, jejichž historie je popsána u jednotlivých sladidel níže. (Doležal, 2008)

Pouze jedno ze šesti nejčastěji užívaných sladidel (sacharin, aspartam, acesulfam, sukralóza, cyklamát a stévie), bylo objeveno a syntetizováno s cílem vytvořit umělé sladidlo, a tím byla sukralóza. Jediná stévie z vyjmenovaných sladidel nebyla syntetizována uměle, avšak izolována z listů rostlin. (Haluzík, 2014)

Velký rozvoj náhradních sladidel se uskutečnil v 60. letech 20. století, kdy došlo k intenzivnímu výzkumu náhradních sladidel. Z důvodů vysoké spotřeby cukru, který měl nepříznivý vliv na zdravotní stav obyvatel. (Housová, 2007)

Od roku 1955 JECFA vypracoval koncepci stanovení jejich akceptovatelného denního příjmu, což je hodnota ADI. Od roku 2002 v EU má tuto funkci Evropský úřad pro bezpečnost potravin EFSA a jeho vědecký panel (ANS), který schvaluje a vydává seznam povolených sladidel pod E číslem. (Račická, 2012)

### **3.4 Rozdělení nízko- a neenergetických sladidel**

Na základě odborného článku, který byl vytvořen MUDr. Evou Račickou (2012) se sladidla dělí podle původu, nutriční hodnoty a chemické struktury.

1. podle původu
  - a) syntetická: sacharin, cyklamát
  - b) syntetická, která jsou identická s přírodními: polyalkoholy
  - c) přírodní: thaumatin, steviosid
2. podle nutriční hodnoty
  - a) energetická: polyalkoholy, vyjma erythritolu
  - b) neenergetická: synteticky vyrobená i přírodní
3. podle chemické struktury
  - a) proteiny, peptidy: aspartam, thaumatin
  - b) halogenové disacharidy: sukralóza
  - c) terpeny: steviosid
  - d) chalkony: neohesperidin dihydrochalkon

#### **3.4.1 Syntetická sladidla**

Syntetická sladidla označujeme také jako umělá či náhradní sladidla. Většina z nich byla objevena náhodou, jako vedlejší produkty a meziprodukty při syntéze jiných chemikálií. Dále jsou spojovány s porušením pravidel správného chování v laboratoři. Tudíž je jejich historie poměrně krátká. (Jonáš et Kuchař, 2013)

Z chemického hlediska jsou postaveny na bázi aminokyselin. Patří do vysoce intenzivních látek, jejichž sladkost je několikanásobně vyšší než u sacharózy. Profil sladkosti, který způsobuje pocit sladké chuti, je od sacharózy odlišný, a proto jsou využívány v komplexních sloučeninách, které zajišťují nejpřirozenější sladkou chuť. (Jonáš et Kuchař, 2013) Syntetická sladidla jsou nekalorická, obsahují méně než 21 kJ na porci. Nejsou kariogenní a mnohdy termolabilní. (Račická, 2012)

Tato sladidla se přidávají do potravin a nápojů, kde se projeví během 1 až 2 sekund, proto je výhodné jejich použití do nepříjemných příchutí léčiv, kde danou chuť maskují. Musí

být inertní proti všem přírodním složkám a chemickým přídatným látkám, které se nachází v produktech. Z důvodů rozdílných technologických procesů, jako je lyofilizace, mražení či zahřívání, je důležitá tepelná stabilita, která se pohybuje v rozmezí od -30 až +260 °C. (Krutošíková, 1985)

V řadě odborných publikací se často objevují zprávy o závadnosti některých syntetických sladidel. Při dodržování správného dávkování se tyto domněnky nepotvrdily. Nicméně v některých státech jsou určitá sladidla zakázána, nebo je jejich užívání omezené. (Doležal, 2009)

### **3.4.1.1 Sacharin**

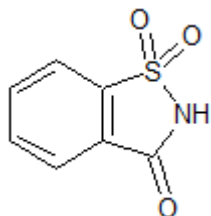
Sacharin je první uměle vyrobené neenergetické sladidlo, které se značí symbolem E954. Je nekalorické, tudíž nepodporuje tvorbu zubního kazu. (Doležal, 2009) Přijatelné denní množství je stanovené na 5 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Je přibližně 300krát sladší než sacharóza. (Račická, 2012) Sacharin je stabilní během vaření, pečení a ve vysoce kyselých podmínkách. Má však nahořklou a kovovou pachut'. (Vrbová, 2001) Obchodní názvy sacharinu jsou Dianer T500, Fruktafam či Fan sladidlo. (Račická, 2012) V současné době mezi hlavní výrobce patří Čína a Jižní Korea. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Sacharin byl objeven v roce 1878 chemiky Remsenem a Fahlbergem. Fahlberg byl spolupracovníkem profesora Remsena na Johns Hopkins University v Baltimore. Zabývali se oxidací o-toluen-sulfonamidu, kde očekávali tvorbu o-sulfamoylbenzoové kyseliny. Došlo však ke vzniku kondenzované heterocyklické sloučeniny o-sulfobenzimid. Později Fahlberg náhodně objevil intenzivní sladkost nové sloučeniny a nazval ji sacharin. Jeho přípravu nechal hned patentovat, aniž by informoval Remsena. (Nabors, 2001) Sacharin byl SCF schválen roku 1977. (Mortensen, 2006)

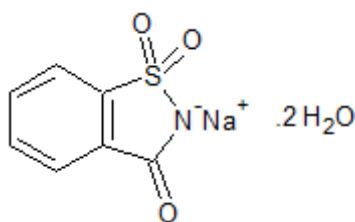
Sacharin je komerčně dostupný ve třech formách, a sice kyseliny, sodné a vápenaté soli. Nejčastěji používanou formou je sodná sůl sacharinu, jelikož je vysoce rozpustná a má vysokou stabilitu. (Nabors, 2001)

Sacharin je ve formě bílých krystalů nebo bílého krystalického prášku, který je bez zápachu, nebo se slabší aromatickou vůní mající sladkou chuť i ve zředěných roztocích. Sacharin je těžce rozpustný ve vodě, dostatečně rozpustný v zásaditých roztocích a mírně rozpustný v etanolu. (Směrnice 60/ES, 2008)

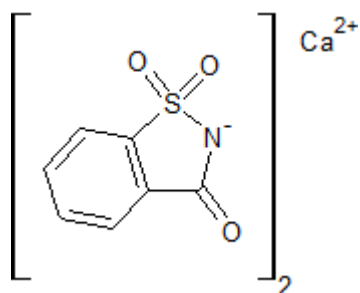
Z chemického hlediska se jedná o imid 2-sulfobenzoovou kyselinu (Doležal, 2009) Molekulární vzorec sacharinu je  $C_7H_5NO_3S$ . Chemický název sacharinu zní 3-oxo-2,3-dihydrobenzo(d)izotiazol-1,1-dioxid. (Směrnice 60/ES, 2008)



Sacharin sodný jsou bílé krystaly nebo bílý krystalický rozpadavý prášek, který bývá bez zápachu nebo jen s mírným pachem. Intenzivní sladká chuť je typická i ve velmi zředěných roztocích. Chemický vzorec sodné soli sacharinu je  $C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$  a chemický název zní dihydrát sodné soli 1,2-benzisothiazolin-3-on-1,1-dioxidu. (Směrnice 60/ES, 2008)



Sacharin vápenatý má stejné vlastnosti jako sodná sůl sacharinu. Chemický název vápenaté soli sacharinu zní hydrát (2:7) vápenaté soli 1,2-benzisothiazolin-3-on-1,1-dioxid a chemický vzorec  $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3 \frac{1}{2} H_2O$ . (Směrnice 60/ES, 2008)



Sacharin lze vyrobit několika způsoby. Nejznámějším postupem přípravy je metoda objevitele sacharinu, který vycházel z toluenu. Další metoda syntézy sacharinu vychází z anthranilové kyseliny nebo z anhydridu ftalové kyseliny. (Krutošíková, 1985)

Z důvodu zvyšování sladivosti a zabránění hořké pachuti se sacharin často kombinuje s jinými sladidly. Nejdříve se používala směs sacharinu a dulcinu. Později směs sacharinu s cyklamátem sodným. Tato kombinace je vzájemně prospěšná, jelikož i cyklamát má nežádoucí chuť. Bylo zjištěno, že 10 dílů cyklamátu na 1 díl sacharinu má podobnou chuť jako sacharóza. Dále byly hlášeny i směsi s aspartamem, acesulfamem K a sukralózou. Dokonce i fruktóza a sacharóza se sacharinem může poskytnout nízkokalorické produkty s příjemnou chutí. (Nabors, 2001)

Hlavní funkcí sacharinu je poskytovat sladkost potravin a nápojů bez doprovodných kalorií. Používá se hlavně u nealkoholických nápojů a ovocných šťáv, ve zpracovaném ovoci, žvýkačkách a cukrovinkách, v želatinových dezertech, marmeládách, dresincích a omáčkách. Dále jako stolní sladidlo, které může být v tekuté formě či ve formě tablet nebo prášku. (Nabors, 2001) Nedoporučuje se dětem do 3 let, dále těhotným i kojícím ženám. (Račická, 2012)

Lidé neumí sacharin metabolizovat. (Nabors, 2001) Tudíž je beze změny vylučován, zejména močí a to až z 98 %. (Krutošíková, 1985)

Jedna z nejznámějších studií byla provedena na potkanech, kde byl zjištěn četný výskyt rakoviny močového měchýře. Tento pokus byl prokázán pouze u potkanů, pro které jsou typické vysoké hodnoty pH, vysoké množství fosforečnanu vápenatého a vysoké hladiny bílkovin v moči. Vše začíná spojením proteinu s fosforečnanem vápenatým a sacharinem, které dávají vzniku mikrokrystalů a ty nenávratně poškozují sliznici močového měchýře. Reakcí na poškozenou sliznici se začnou produkovat buňky, které vedou k tvorbě tumorů. Řada dalších studií potvrdila, že sacharin nepoškozuje DNA a tudíž ho lze považovat za bezpečné sladidlo. (Whysner et Williams, 1996)

### **3.4.1.2 Cyklamát**

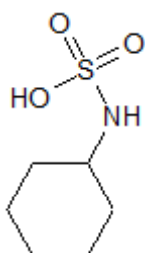
Cyklamát (sodná a vápenatá sůl cyklamové kyseliny) se značí symbolem E952. Je přibližně 30 - 50 krát sladší než sacharóza. (Čopíková et al., 2013) Přijatelné denní množství je kolem  $7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti. Při vysoké koncentraci je nahořklý a u nízké koncentrace naopak pachut' jiných látek maskuje. Nejčastější obchodní název cyklamátu je Clio. (Račická, 2012) Dnes se cyklamát vyrábí hlavně v Číně, Indonésii, Taiwanu a ve Španělsku. (Nabors, 2001)

Cyklamát byl syntetizován v roce 1937, studentem Michaelem Svedem, na univerzitě v Illinois. (Nabors, 2001) Sveda se zabýval antipyretickými vlastnostmi sloučenin. Při svém



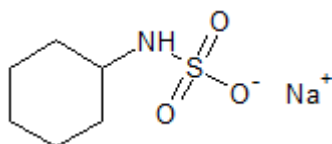
zkoumání odložil zapálenou cigaretu na stůl a poté, co ji vložil zpět do úst, zjistil její sladkost. (Doležal, 2009)

Sladidlo může být ve třech formách: cyklamové kyseliny, sodné a vápenaté soli cyklamátu. Cyklamová kyselina neboli cyklohexylsulfamová kyselina je bílý krystalický prášek, který je dobře rozpustný ve vodném roztoku. Poměrně silná kyselina, v 10 % vodném roztoku je její pH kolem 0,8 - 1,6. (Nabors, 2001) Téměř bezbarvá sloučenina se sladkokyselou chutí. Chemický vzorec cyklamové kyseliny zní  $C_6H_{13}NO_3S$  a chemický název je cyklohexansulfamová kyselina nebo cyklohexylaminosulfonová kyselina. (Směrnice 60/ES, 2008)

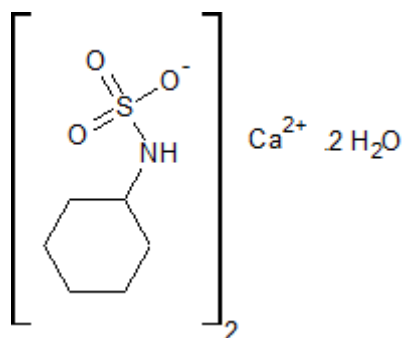


Sodné a vápenaté soli jsou silné elektrolyty, které jsou vysoce ionizovány v roztoku. Většinou neutrálního charakteru s malou pufrací schopností. Oba typy solí se vyskytují ve formě bílého krystalického prášku nebo bílých krystalek. Chemický vzorec pro cyklamát sodný je  $C_6H_{12}NNaO_3S$  a  $C_{12}H_{24}CaN_2O_6S_2 \cdot 2H_2O$  pro vápenatý typ. Snadno rozpustné ve vodě. Hůře se rozpouští v olejích a nepolárních rozpouštědlech. (Nabors, 2001) Udává se, že jsou přibližně 30krát sladší než sacharóza. (Směrnice 60/ES, 2008)

Chemický název cyklamátu sodného zní cyklohexansulfamát sodný nebo cyklohexylsulfamát sodný. (Směrnice 60/ES, 2008)



Chemický název pro cyklamát vápenatý zní cyklohexansulfamát vápenatý nebo cyklohexylsulfamát vápenatý. (Směrnice 60/ES, 2008)



Cyklamát se vyrábí sulfonací z cyklohexylaminu. Cyklohexylamin je výrazně toxičtější než cyklamát. (Nabors, 2001)

Cyklamát se využívá hlavně jako nekalorické sladidlo, které je vhodné kombinovat s jinými sladidly. Nejčastější kombinace je se sacharinem, kdy je dáváno deset dílů cyklamátu a jeden díl sacharinu. Každá složka přispívá přibližně stejně, jelikož sacharin je 10krát sladší než cyklamát. Také se může využívat jako ochucovadlo v různých potravinách a nápojích. Další uplatnění cyklamátu je ve farmaceutickém odvětví. (Nabors, 2001) Nedoporučuje se konzumace v těhotenství a u dětí. (Račická, 2012)

Cyklamát není metabolizován savčí tkání, nicméně u některých jedinců se metabolizuje na cyklohexylamin pomocí mikroflóry v tlustém střevě. Tuto schopnost má přibližně 25 % populace. Cyklamát je absorbován pouze z 37 %, zatímco cyklohexylamin je absorbován úplně. Cyklamát, který je absorbován, se vylučuje v nezměněné formě močí, stejně tak cyklohexylamin. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Od roku 1970 bylo užívání cyklamátu v USA zakázáno. Z důvodů studií, kde myším a krysám bylo podáváno větší množství cyklamátu, než je přípustné pro lidskou potřebu. Zdůvodnění zákazu bylo doplněno i o další výzkumy, kde cyklamáty vyvolaly deformaci kuřecích embryí. Dále bylo prokázáno, že štěpný produkt cyklamátu, cyklohexylamin, poškozuje chromozómy krysích embryí a kostní dřeně. Avšak v roce 1977 byl cyklamát opět povolen, zejména pro dietetické pokrmy a nealkoholické nápoje. Největší snahu vrátit na trh cyklamát měl hlavní výrobce, firma Abott, která prováděla nespočetně pokusů. V roce 1980 poslala žádost na FDA, ta však byla zamítnuta. FDA uznala, že u lidí rakovinu nezpůsobuje, ale má pochybnosti z hlediska rizika vyvolání genetických změn, proto je v USA užívání stále zakázáno. (Simonsohn, 2012)

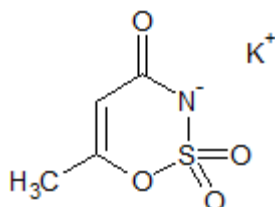
Dokonce ani 24letá studie neprokázala žádný vztah ke vzniku rakoviny. (Čopíková et al, 2013) Výzkum byl proveden v National Cancer Institute v USA. Při této studii bylo podáváno 100 nebo 500 mg cyklamátu na kilogram živé hmotnosti. A sice 5krát týdně od narození do 24 let. Na pozorování se využívalo 21 opic, tří různých druhů. Sedm jich zemřelo během studie bez jakýchkoli nádorů, osm jich zůstalo ve skupině konzumující 100 mg.kg<sup>-1</sup> a zbylých šest vychází na 500 mg.kg<sup>-1</sup>. Výsledky této studie naznačují urychlený proces testikulární atrofie i zvýšený výskyt nádorů, ale u starých zvířat jsou tyto pokusy neprůkazné. (Takayama et al., 2008)

### 3.4.1.3 Acesulfam K

Acesulfam K je jedno z dalších nekalorických sladidel, které se značí E950. Za přijatelné denní množství je považováno 9 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. (Račická, 2012) Obchodní názvy daného sladidla jsou Sunett nebo Sweet One. V porovnání se sacharózou je 200krát sladší. Má rychlý náběh sladké chuti. Pokud je ve vyšších koncentracích nebo ve vodném roztoku, má nahořklou pachut'. (Čopíková et al., 2013) Z důvodu hořké chuti je vhodná kombinace s aspartamem. Při této kombinaci jsou sladidla nazývány E962. (Račická, 2012)

Draselná sůl acesulfamu byla rovněž objevena náhodou při nedodržení bezpečnostních pravidel v laboratoři. Objevitelem byl chemik Karl Clauss, který si nevědomky olízl prsty během listování v papírech roku 1967. (Doležal, 2009) Karl Clauss byl zaměstnancem firmy Hoechst AG, která v současné době sladidlo prodává. (Smith et Hong-Shum, 2003)

Acesulfam K je dobře rozpustný ve vodě a v alkoholickém roztoku s vyšším podílem vody. (O'Donnell et Kearsly, 2012). Z chemického hlediska ho lze považovat za příbuzný se sacharinem. (Doležal, 2009) Název zní 6-methyl-1,2,3-oxathiazin-4(3H)-on-2,2-dioxid. Chemický vzorec je C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KNO<sub>4</sub>S. (Směrnice 60/ES, 2008)



Jedná se o draselnou sůl, která je odvozena od acetyloctové kyseliny. (Smith et Hong-Shum, 2003) Acesulfam K se často používá ve směsích s aspartamem, cyklamátem sodným

a sukralózou, kde zlepšuje kvalitu chuti. U kvantitativních kombinací může zvýšit sladkost až na 90 %. U binárních směsí, acesulfamu K a aspartamu, může být sladkost v rozmezí 40 – 50 %. Při smíchání se sukralózou je sladivost relativně nízká. A ve směsi se sacharinem se sladivost nezvyšuje. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

V pevné formě může být skladován mnoho let, a to bez jakýchkoli viditelných změn. Je tedy stabilní v suchých přípravcích, například v práškových dezertech či tabletách. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Acesulfam K je také stabilní při vysokých teplotách, a proto se používá na vaření i pečení. (Katz, 2012) Jako sladidlo můžeme acesulfam K objevit ve žvýkačkách, nealkoholických nápojích, mléčných výrobcích, nízkokalorických sladkostech a cukrovinkách. Dále se používá ve farmaceutických výrobcích. (Vrbová, 2001)

V lidském těle není metabolizován. Je tedy rychle vylučován, především močí. (Čopíková et al., 2013)

Na základě literatury Lyn O'Briens Nabors (2011) byla provedena celá škála toxikologických studií s tímto sladidlem, jelikož toxikologické vyhodnocení má zásadní význam pro schválení a následné použití. Z níže provedených výzkumů došli k závěru, že acesulfam K není toxický. Jedná se o výzkum na subchronické toxické účinky, potenciální karcinogenitu a chronickou toxicitu. Výzkum na subchronické toxické účinky byl zkoumán na krysách v 90denní studii. Zvířata zde byla krmena potravou obsahující acesulfam draselný o koncentraci 0 – 10 %. Potenciální karcinogenita a chronická toxicita byla studována také na krysách, avšak byly krmeny 3% acesulfamem K obsaženém v potravě. Chronické toxické účinky acesulfamu K byly studovány i na psech, kteří konzumovali sladidlo celé dva roky. Toxikologické studie potvrdily bezpečnost acesulfamu K. Lze ho tedy užívat jako intenzivní sladidlo. Tento názor byl potvrzen Společným expertním výborem pro potravinářská aditiva, podle kterého data ukazují, že acesulfam K nevykazuje mutagenitu ani karcinogenitu.

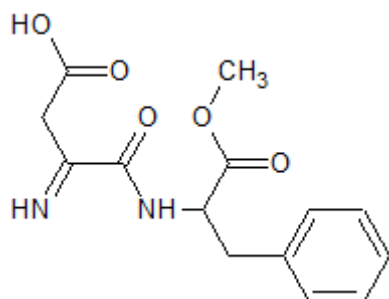
#### **3.4.1.4 Aspartam a jeho deriváty**

Aspartam je přibližně 180 - 200krát sladší než sacharóza. V Evropě je značen symbolem E951. Podle úřadu JECFA je hodnota ADI stanovena na 40 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Zatímco FDA stanovila hodnotu ADI až na 50 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. (O'Donnell, 2012) Energetická hodnota je 4 kcal.g<sup>-1</sup>, avšak vzhledem k vyššímu sladicímu efektu se používá tak nízké množství, že je jeho energetická hodnota zanedbatelná. (Castel et al., 2015) Aspartam je velmi užíván v potravinářském průmyslu, jelikož postrádá nahořklou

pachut'. (Doležal, 2009) Obchodní názvy daného sladidla jsou Irbis Sweet, Vitar Sweet nebo Nutrasweet. (Doležal, 2009)

Aspartam byl objeven roku 1965 v americké laboratoři G. D. Searle Company. Poté následovalo přísně testování, než se prvně objevil na americkém trhu v roce 1981 pod názvem NutraSweet. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Avšak schválen byl až roku 1984. (Mortensen, 2006) Nyní se aspartam vyskytuje zhruba v 6000 produktech po celém světě. (Nabors, 2011)

Aspartam je těžce rozpustný v etanolu a ve vodě. Z chemického hlediska se jedná o dipeptid složený ze dvou aminokyselin, L-asparagové kyseliny a L-fenylalaninu ve formě methylesteru. Chemický název aspartamu je N-L- $\alpha$ -aspartyl-L-fenylalanin-1-methylester. (Nabors, 2001) Chemický vzorec je  $C_{14}H_{18}N_2O_5$ . (Směrnice 60/ES, 2008)



Nejobvyklejší způsob syntézy aspartamu vychází z aminolýzy vnitřního anhydridu asparagové kyseliny. Aminolýza se provádí v prostředí organických rozpouštědel ve směsi vody a organického rozpouštědla nebo jen ve vodě při vhodném pH. (Krutošíková, 1985)

Aspartam se často kombinuje se sacharózou, glukózou, cyklamátem a sacharinem. Pouze nepatrný přídavek aspartamu nebo některých jeho analogů k sacharinu úplně potlačují jeho nepříjemnou chuť. Aspartam se používá v potravinářském i farmaceutickém průmyslu. Přidávají se do cukrovinek, sirupů, mléčných výrobků nebo do farmaceutických léků. (Krutošíková, 1985)

V pevném stavu je aspartam poměrně stabilní. Během skladování při vyšší teplotě dochází k jeho přeměně. Nejdříve je termolyticky odštěpena methoxylová skupina esteru za tvorby metanolu, poté je acylový kation napaden volným elektronovým párem dusíkového atomu mechanismem monomolekulární nukleofilní substituce. Nakonec dochází k cyklizaci za vzniku diketopiperazinu, jehož chemický název je 5-benzyl-3,6-dioxopiperazin-2-ylacetová kyselina. Uvádí se, že v roztoku při hodnotě pH menší než 3 aspartam snadno hydrolyzuje za vzniku L- $\alpha$ -aspartyl-L-fenylalaninu, při hodnotě pH větším než 6 je transformován za vzniku 5-benzyl-3,6-dioxopiperazin-2-ylacetové kyseliny. Při běžné laboratorní teplotě je aspartam

stabilní v rozmezí hodnot pH 3,4 až 5. Nejstabilnější je však při pH 4,3. Pokud je hodnota pH nižší než 3,4, hydrolyzuje na odpovídající aminokyseliny, při hodnotě pH vyšší než 5 dochází k cyklizaci za vzniku diketopiperazinu. Zmíněný cyklický produkt se také nachází v sýrech, kakau, proteinových hydrolyzátech či praženém sladu. (Smrčková et Bindzar, 2014) Z toho vyplývá, že není stálý při nízkém pH, dále i při vyšších teplotách. (Doležal, 2009) Je tedy nevhodný pro tepelnou úpravu, jelikož vzniká hořká chuť fenylaminu. (Račická, 2012)

Při humánní biotransformaci dochází k hydrolýze pomocí proteolytických enzymů v tenkém střevě a slizničních buňkách ze 40 % na asparagovou kyselinu, z 50 % na fenylalanin a zbývající část se změní na metanol. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Asparagová kyselina působí ve vysoké koncentraci jako toxin. Její přebytek může vést až k degeneraci buněk.

Přebytek fenylalaninu může blokovat transport aminokyselin, které se podílí na snížení hladiny dopaminu a serotoninu v mozku. Je spojován s fenylketonurií nebo mentální retardací. Fenylalanin se může metabolizovat na tyrosin, ten na 4-hydroxyfenylpyruvát, který se oxiduje na homogentisovou kyselinu a daná kyselina dá vzniku fumarátu. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Poslední část produktu z aspartamu je metanol. Z metanolu může vznikat formaldehyd, který je vysoce toxický a karcinogenní. Tento produkt se tvoří zejména v dietních nápojích, které zůstávají stát dlouhodobě v regálech při vyšších teplotách. Již v plechovce nebo láhvi se aspartam rozkládá na metanol, dále na formaldehyd a rovněž i rakovinotvornou mravenčí kyselinu. (Simonsohn, 2012)

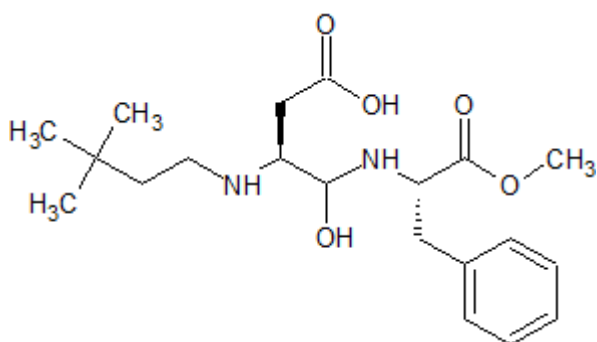
Bezpečnost aspartamu byla testována několika studiemi, které byly provedeny na zvířatech i lidech. (Nabors, 2001) V roce 2002 bylo EU SCF provedeno více než 500 studií, na základě kterých se dospělo k závěru, že příjem složek z aspartamu je relativně podobný příjmu látky z přirozené potravy. Z nedávných hodnocení bezpečnosti aspartamu vyplývá, že neexistuje žádná spojitost mezi aspartamem a jeho produkty během rozkladu s nežádoucími účinky při dávce 400 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Dále se došlo k závěru, že neexistuje žádný důvěryhodný důkaz, že je aspartam karcinogenní. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

#### 3.4.1.4.1 Neotam

Neotam neboli E961 byl poprvé připraven v roce 1991 ve Francii. (Čopíková et al, 2013) Neotam je přibližně 8000krát sladší než sacharóza a má čistě sladkou chuť, která je sacharóze podobná. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Hodnota ADI byla stanovena na 2 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. (Račická, 2012) V současné době je povolen na mnoho místech, jako je

Argentina, Austrálie, Bělorusko, Brazílie, Chile, Čína, EU, Gruzie, Indie, Japonsko, Nový Zéland a další. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Neotam je jedním z derivátů aspartamu, který vzniká přidáním šesti uhlíkatých skupin k aminové skupině. (Walters, 2013) V porovnání s aspartamem je 30krát sladší, je stabilní i za vyšších teplot, proto se často používá na vaření i pečení. Chemický název zní methyl ester N-(3,3-dimethyl)butyl-L- $\alpha$ -aspartyl-L-fenylalanin (Čopíková et al., 2013) a sumární vzorec je  $C_{20}H_{30}N_2O_5$ . (Nabors, 2001)



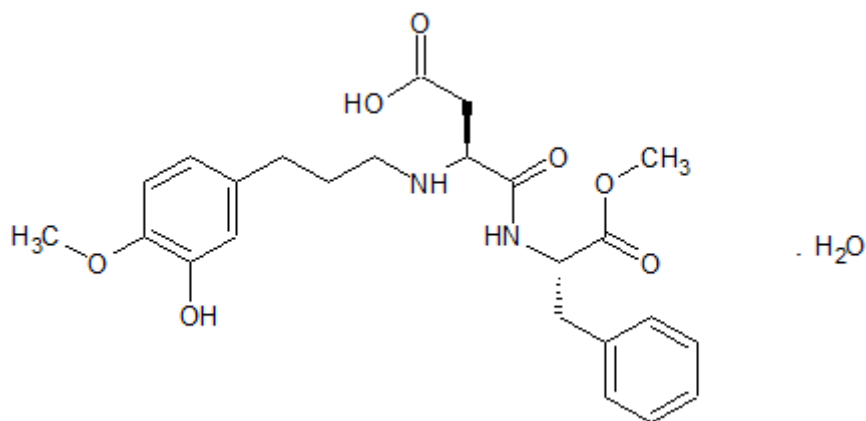
Přibližně 20 až 30 % je absorbováno po požití z trávicího traktu. Neotam je degradován deesterifikací na metanol a N-(3,3-dimethyl) butyl-L- $\alpha$ -L-fenylalanin a oba jsou poměrně rychle vylučovány močí či stolicí. E961 není metabolizován na derivát diketopiperazin, jako aspartam.

Na základě studií je považován za bezpečné sladidlo, dokonce i pro lidi trpící fenylketonurií. (Čopíková et al, 2013)

#### 3.4.1.4.2 Advantam

Advantam je další nízkokalorické sladidlo, které je derivátem aspartamu. Pro používání do potravin byl schválen 14. května 2014. Evropský úřad pro bezpečnost potravin stanovil přijatelný denní příjem pro dané sladidlo na  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti. Udává se, že je 20 000krát sladší než sacharóza a chutí velmi podobný aspartamu, avšak má delší rezistenci sladkého vjemu. (Čopíková et al., 2013) Advantam je 100krát sladší než aspartam. (Nabors, 2011) Advantam má jako potravinářská přídatná látka kód E969. (Čopíková et al., 2013)

Advantam je bílý nebo žlutý prášek. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Chemický název zní methyl ester N-[N-[3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propyl]-L- $\alpha$ -aspartyl]-L-fenylalanin (Čopíková et al., 2013) a sumární vzorec je  $C_{24}H_{30}N_2O_7 \cdot H_2O$  (Nabors, 2011)



Nařízení komise EU (2014) uvádí, že výroba advantamu se provádí chemickou syntézou zahrnující tři fáze. Nejdříve se vyrobí základní meziprodukt (3-hydroxy-4-methoxycinnamaldehyd), poté následuje hydrogenace za účelem získání 3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl) propionaldehyd. Ve třetí fázi se metanolvý roztok spojí s aspartamem, aby vznikl imin, který selektivní hydrogenací vytvoří advantam. Roztok se nechá krystalizovat a surové krystaly se opláchnou. Opět se nechá zkrystalizovat a výsledné krystaly se oddělí, omyjí a usuší. (Nařízení č. 497, 2014)

V těle je omezeně absorbován po hydrolyze esterové vazby v gastrointestinálním traktu. Zhruba 80 % advantamu po orálním podání je vyloučeno stolicí. (Čopíková et al., 2013)

Toxicita byla studována na myších, krysách, králících i psech a jediným zjištěním bylo snížení hmotnosti a snížení kalorického využití potravin u skupiny zvířat s vysokými dávkami advantamu. (Čopíková et al., 2013)

#### 3.4.1.4.3 Alitam

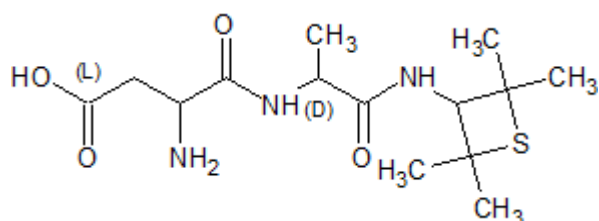
Alitam byl vyvinut přibližně v roce 1970 firmou Pfizer. (Nabors, 2001) Jedná se tedy o poměrně nové sladidlo, které je zhruba 2000krát sladší než sacharóza. (Mortensen, 2006) V současné době je v EU zakázán. (Vrbová, 2001). Schválen byl v Mexiku, Číně, Kolumbii, Austrálii a na Novém Zélandě, kde byla hodnota ADI stanovena na 1 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. (Čopíková et al., 2013)

Alitam je strukturně podobný aspartamu, avšak má řadu pozitivních vlastností. (Vrbová, 2001) Při porovnání s aspartamem je 10krát sladší, stálejší a nevyskytuje se nepříjemná chuť, avšak při dlouhodobém skladování může dojít ke změně chuti. (Čopíková et



al., 2013) Dále je vhodný i pro pacienty trpící fenylylketonurií. (Vrbová, 2001) Při kombinaci alitamu s acesulfamem K se zvyšuje sladkost a platí tedy synergický účinek. (Grenby, 1996)

Jedná se o dipeptid, který je složen z alaninu a asparagové kyseliny. (Doležal, 2009) Chemický název zní L- $\alpha$ -aspartyl-N-(2,2,4,4-tetramethyl-3-thietanyl)-D-alaninamid. (Čopíková et al., 2013)



Alitam je v těle hydrolyzován na asparagovou kyselinu, která je metabolizována a na D-alaninamidovou část molekuly, která je v nezměněné formě vyloučena. (Čopíková et al., 2013) Alitam je v těle dobře absorbován, což bylo zjištěno nejen u zvířat, ale i u lidí. Po orálním užití se až 96 % vyloučí močí a zbylá část stolicí. (Nabors, 2001)

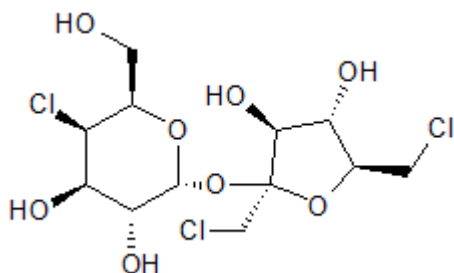
Na základě testů karcinogenity odmítla komise JECFA určit hodnotu ADI, jelikož v nich shledala jisté nejasnosti. Studie byla provedena na zvířatech, kterým se podávalo velké množství alitamu. Daná zvířata vykazovala nejvyšší výskyt nezhoubného bujení jaterních buněk, z kterých se mohlo vyvinout zhoubné bujení. Později však komise na základě stejných testů změnila své stanovisko a rozhodla, že se o karcinogen nejedná. (Vrbová, 2001)

### 3.4.1.5 Sukralóza

Jedno z dalších neenergetických sladidel je sukralóza. (Račická, 2012) V zemích EU je na produktech Sukralózy kód E955. Je přibližně 500 - 600krát sladší než sacharóza, 12krát sladší než sacharin a 4krát sladší než aspartam. Prodává se pod obchodním názvem Splenda. (Housová, 2007) Sukralózu najdeme i v relativně novém nekalorickém sladidle, zvané shugr. Shugr je směs přírodního erythritolu, maltodextrinu a D-tagatasy a synteticky získané sukralózy. (Doležal, 2009) Lze ji koupit v čisté formě nebo ve směsi s klasickým cukrem v poměru 1:1. Přijatelná denní dávka je 9 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti.

Sukralóza byla objevena náhodou v roce 1976 v londýnské firmě Tate & Lyle. Historie je opět spjata s porušováním bezpečnostních podmínek v laboratoři, kde ji jeden pracovník ochutnal. (Housová, 2007) Příslušným úřadem SCF byla schválena až roku 2000. (Mortensen, 2006)

Sukralóza je bílý krystalický prášek, téměř bez zápachu. Snadno se rozpouští ve vodě, metanolu a etanolu, avšak mírně rozpustný v etyl-acetátu. Chemický název sukralózy je (1,6-dichlor-1,6-dideoxy-β-D-fruktofuranosyl)-4-chlor-4-deoxy-α-D-galaktopyranosid. Chemický vzorec zní C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>8</sub>. (Směrnice 60/ES, 2008)



Sukralóza se vyrábí přímou chlorací ze sacharózy, jejíž chuť je přirozeně sladká, bez jakéhokoli dochucení. Lidské tělo sukralózu nerozpoznává, a proto ji vylučuje v nezměněné podobě. (Čopíková et al., 2013)

Vůči teplotě je velmi stabilní, dokonce patří mezi jedno z nejstabilnějších sladidel. (Housová, 2007) Nepodléhá kyselé ani enzymové hydrolyze. Z těchto důvodů je považována za vhodné sladidlo pro široké spektrum potravin a nápojů, dokonce se přidává do některých léků. Nezpůsobuje zubní kaz. (Čopíková et al., 2013) Používá se samostatně nebo lze kombinovat s jinými sladidly, např. s acesulfamem K a aspartamem. (Housová, 2007)

Bylo publikováno více než 100 odborných studií, které se zabývaly bezpečností daného sladidla a na jejichž základě byla označena jako bezpečná. Je potvrzeno, že není genotoxická a je inertním sladidlem z pohledu homeostázy glukózy a podněcováním apetitu. Existuje jediná studie, kde autoři publikovali, že Splenda ovlivňuje střevní mikroflóru, jelikož zvyšuje obsah P-glykoproteinu a cytochromu P450 u samců krys. Výsledky byly zpochybněny značným množstvím expertů zejména proto, že byl použit preparát Splenda obsahující 1 % sukralózy a 99 % maltodextrinu. (Čopíková et al., 2013) Nezávadnost sukralózy byla potvrzena národními i mezinárodními orgány zabývajícími se bezpečností potravin, a sice FDA, JECFA, EFSA, FSANZ aj. (Housová, 2007)

### 3.4.2 Přírodní sladidla

Přírodní sladidla jsou známá jako tzv. „sladká éčka“, náhradní cukry nebo náhražky sacharózy. Jsou považována za přídatné látky, které se používají z mnoha důvodů: pro prodloužení trvanlivosti, pro zlepšení chuti, vzhledu a vůně.

Z chemického hlediska se řadí mezi cukry. Strukturně jsou velmi podobná sacharóze. Většina má i podobnou energetickou hodnotu, což je kolem  $17 \text{ kJ.g}^{-1}$ . (Jonáš et Kuchař, 2013) Dle MUDr. Račické (2012) dělíme přírodní sladidla na sacharidy, glykosidy a proteiny.

<b>Náhradní přírodní sladidla</b>	<b>Příklady</b>
<b>Sacharidy</b>	
Alkoholické cukry	Sorbitol, Mannitol, Xylitol, Maltitol, Laktitol, Izomalt, Erythritol
Monosacharidy	Fruktóza, D-tagatóza
Oligosacharidy	Fruktooligosacharidy
<b>Glykosidy</b>	Neohesperidin DC, Glycyrrhizin, Steviosidy
<b>Proteiny</b>	Thaumatín, Monellin

Avšak bakalářská práce pojednává o nízko- a neenergetických sladidlech, proto jsou níže popsána tato sladidla: erythritol, D- tagatóza, trehalóza, neohesperidin DC, steviosidy a thaumatín.

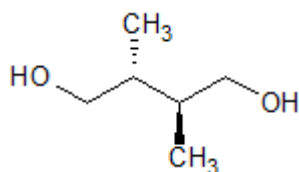
### **3.4.2.1 Sacharidy**

#### **3.4.2.1.1 Erythritol**

Erythritol se přirozeně vyskytuje v ovoci, zelenině nebo fermentovaných potravinách. Také je přítomen v lidském těle a u zvířat. Daný sacharid patří mezi objemová sladidla, tudíž poskytuje objem, texturu a mikrobiologickou stabilitu podobnou sacharóze. Erythritol je o 60 – 70 % sladší než sacharóza a po rozpuštění vykazuje silný chladicí efekt. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Erythritol je značen E968 a lze ho najít pod obchodním názvem Extra-line. (Račická, 2012) Na rozdíl od jiných polyolů je nekalorický. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Erythritol byl izolován z řasy *Protococcus vulgaris* roku 1852. Později byl také objeven v řase *Trentepohlia jolithus*. Poprvé byl schválen v Japonsku v roce 1990. Komerčně se začal vyrábět o tři roky později. Současně byl zahájen program na schválení i v jiných zemích. Dnes je erythritol schválen ve více než 55 zemích světa. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Erythritol je bílá, bezvodá, krystalická substance s malou molekulární hmotností. Může být ve formě granulí nebo v prášku. Jedná se o 4 uhlíkatý cukerný alkohol neboli polyol. (O'Donnell et Kearsly, 2012) Chemický název je 1,2,3,4-butanetetrol a chemický vzorec zní  $C_4H_{10}O_4$ . (Směrnice 60/ES, 2008)



Jedná se o první polyol, který je komerčně vyráběn prostřednictvím přirozeného fermentačního procesu. Výchozím materiálem je dextróza nebo sacharóza, respektive její bohatý roztok, který je fermentován pomocí osmofilních kvasinek, jako je *Moniliella pollinis*. Vznikne směs polyolů, která obsahuje zejména erythritol a stopové množství glycerolu a ribitolu. Přebytečné polyoly, kvasinky a nečistoty se odstraní pomocí filtrace či jiných separačních kroků. Erythritol se následně krystalizuje z koncentrovaného roztoku, vysuší se a dá vzniku krystalu. Existují i chemické způsoby syntézy erythritolu, avšak jsou složité a nákladné. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Pro vylepšení sladkého vjemu se často mísí se syntetickými intenzivními sladidly, jako je sacharin, aspartam, acesulfam K a sukralóza, a také s přírodními intenzivními sladidly, například se stévií či thaumatinem. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Vzhledem ke své malé velikosti, až 90 % požitého erythritolu je absorbováno v tenkém střevu, je tedy vyloučen v nezměněné formě močí. Zbývající část erythritolu přechází do tlustého střeva, odkud je vyloučen v podobě stolice. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Polyoly vykazují při nadměrné konzumaci nadýmání a laxativní účinky, avšak u erythritolu byla prokázána vysoká tolerance k zažívání. Erythritol je tedy jedním z nejlepších tolerovatelných polyolů, u kterého nebyly zaznamenány vedlejší účinky na gastrointestinální trakt při požití dvakrát až čtyřikrát vyšších dávek než u ostatních polyolů. Erythritol patří mezi volné radikály. Vzhledem k tomu, že je dobře vstřebáván a není v těle metabolizován, může uplatňovat své antioxidační vlastnosti, než je zcela vyloučen. Také je nekariogenní. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

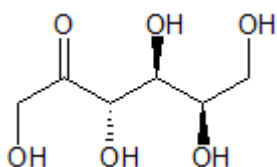
V červnu 1999 společný expertní výbor WHO/FAO pro potravinářské přídatné látky JECFA hodnotil bezpečnost erythritolu, kde byla zadána přijatelná denní dávka na „neurčeno“, což je nejvyšší možné stanovení, které JECFA může dát. Mezi klíčové vlastnosti,

které přispívají k bezpečnosti, patří snadná absorpce a vylučování erythritolu v nezměněné formě močí. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

#### 3.4.2.1.2 Tagatóza

Tagatóza patří mezi nízkokalorická sladidla s energetickou hodnotou  $1,5 \text{ kcal.g}^{-1}$ . Jedná se o přírodní monosacharid, který se vyskytuje v rostlině *Sterculia setigera*. Může být součástí i mléčných výrobků. (Levin, 2002) Tagatóza je objemové sladidlo, tudíž dodává objem jako sacharóza. Sladivost je téměř shodná se sacharózou, odpovídá zhruba 92 %. (Nabors, 2001) Na základě odborných studií získala tagatóza status GRAS, lze ho tedy přidávat do potravin i nápojů. (Levin, 2002) V Evropské unii byla schválena roku 2005. (Račická, 2012)

Strukturně se podobá fruktóze. Molekulární vzorec je  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ . (Nabors, 2001)



Výchozí látkou na výrobu tagatózy je laktóza, která je hydrolyzována na galaktózu a glukózu. D-tagatóza vzniká izomerací D-galaktózy. Dané sladidlo se používá do pekařských výrobků, dietních nealkoholických nápojů, mražených krémů či nízkotučných zmrzlin, cukrovinek a žvýkaček. (Nabors, 2001)

V tenkém střevě se vstřebává pouze 15 – 20 %, zbylá část má v tlustém střevě prebiotický efekt. (Račická, 2012) Mezi pozitivní vlastnosti tedy patří prebiotický účinek, dále nepodporuje tvorbu zubního kazu a je vhodná pro diabetiky. Jedna z klinických studií prokázala, že při příjmu 75 g tagatózy nedochází ke zvýšení glykémie u zdravých osob ani u pacientů s diabetem 2. typu. (Nabors, 2001)

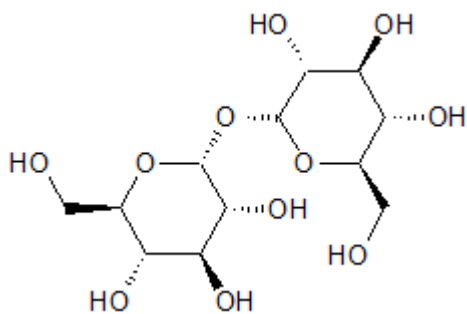
D-tagatóza byla hodnocena společností JECFA v roce 2000, avšak hodnota ADI nebyla stanovena. O rok později na dalším zasedání zmíněného výboru již k danému sladidlu byla přiřazena hodnota přijatelného denní příjmu na  $0 - 80 \text{ mg.kg}^{-1}$ . (Kawamura, 2004)

#### 3.4.2.1.3 Trehalóza

Trehalóza je přírodní sacharid, který se přirozeně vyskytuje v houbách, medu a krevetách. Tradičně byla vyráběna z kultivovaných kvasinek, což bylo poměrně nákladné.

V roce 1994 vytvořila japonská výzkumná společnost Hayashibara enzymatický proces z kukuřičného a bramborového škrobu. Díky této metodě se náklady snížily a došlo k velkému rozvoji využívání trehalózy v kosmetice, ve farmacii a v potravinách.

Trehalóza je bílý prášek bez zápachu s relativní sladivostí 45 % sacharózy. Jedná se o neredukující disacharid, který je tvořen dvěma glukózovými jednotkami spojenými  $\alpha$ -1,1-glykosidickou vazbou. Molekulární vzorec trehalózy je  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . (Jain et Roy, 2009)



Trehalóza má řadu prospěšných funkcí, jako je inhibice retrogradace škrobu a denaturace bílkovin. Přispívá k odolnosti vůči nízkým teplotám. Uchovává čerstvost zeleniny a reguluje absorpci vody. Na základě dalšího výzkumu bylo zjištěno, že trehalóza je schopna přispívat k prevenci vzniku metabolického syndromu. U pokusu na myších krmených vysokotučnou stravou v kombinaci se slazenými nápoji se potvrdilo, že trehalóza na rozdíl od jiných sladidel snižuje hypertrofii viscerálních tukových buněk. Zároveň působí preventivně proti vývoji inzulínové rezistence, tudíž inzulín pracuje nepřetržitě, i když v malém množství. (Suková, 2011)

Trehalóza je enzymaticky hydrolyzována v tenkém střevě. Za pomoci enzymu, který se nachází v mikrokvlích v enterocytech. Vzniklé glukózové jednotky jsou absorbovány a metabolizovány stejnými fyziologickými mechanismy, jako sacharóza, maltóza či laktóza.

Existuje pouze malé množství studií týkající se intolerance trehalózy, dokonce je méně častá než intolerance laktózy. Projevuje se průjmy, které jsou typické i u intolerance laktózy. První regulační schválení trehalózy pro potraviny bylo ve Velké Británii v roce 1991. V Evropě byla schválena roku 2001. Užívání trehalózy není omezeno. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

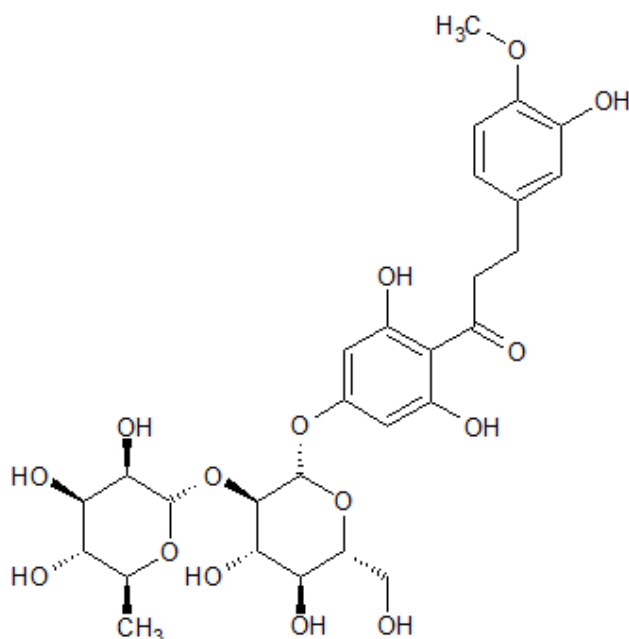
### 3.4.2.2 Glykosidy

#### 3.4.2.2.1 Neohesperidin dihydrochalkon

Neohesperidin dihydrolochalkon je nízkoenergetické sladidlo, jehož energetická hodnota je  $8,4 \text{ kJ.g}^{-1}$ . Vyskytuje se v pomerančích a grapefruitech. Hodnota ADI byla stanovena na  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti. (Račická, 2012) NHDC je přibližně 1900krát sladší než sacharóza. (Čopíková et al., 2013) V EU je neohesperidin dihydrolochalkon označen číslem E959. Vykazuje pomalu nastupující a zvolna odeznívající chuť, která připomíná mentol. (Vrbová, 2001)

Sladká chuť neohesperidinu DC byla objevena v roce 1963, hlavní zásluha patří panu Horowitzi a Gentili. (Nabors, 2001) Od té doby bylo z původního sladidla syntetizováno velké množství různých variant, ale žádná z nich nebyla výrazně lepší než původní sloučenina. (Nabors, 2001)

V současné době je neohesperidin jediným sladkým dihydrochalkonem. (Nabors, 2001) Snadno rozpustný v horké vodě, hůře rozpustný ve studené vodě, téměř nerozpustný v etheru a benzenu. Chemický název je 2-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-4'- $\beta$ -D-glukopyranosyl hesperetidihydrochalkon a molekulární vzorec NHDC je  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ . (Směrnice 60/ES, 2008)



Výchozí surovinou pro extrakci daného sladidla jsou flavonoidy vyskytující ve slupkách citrusových plodů. (Klesch et al., 2006) Získává se katalytickou hydrogenací neohesperidinu. (Směrnice 60/ES, 2008)

Užívá se jako látka, která poskytuje aroma. Dále může snižovat hořkost a poskytovat sladkou chuť v grapefruitových džusech i v hořkých lécích. Používá se při výrobě nealkoholických nápojů, cukrovinek, žvýkaček, zubních past i ústních vod. V Belgii se dokonce používá v pivovarnictví. V ČR se NHDC smí užívat pouze v omezeném množství v různých výrobcích se sníženým obsahem využitelné energie nebo bez přidaného cukru. Také je povoleno ve stolních sladidlech, majonézách, hořčicích a v určitých druzích piv včetně nealkoholického piva. Avšak v USA je jeho užívání zakázáno. (Vrbová, 2001)

NHDC byl též podroben výzkumu, zda způsobuje toxicitu. Studie byla provedena na krysách kmene Wistar. K dispozici bylo 20 samic i 20 samců, kterým bylo podáváno NHDC v různých koncentracích po dobu 91 dnů. Pouze u skupin, kde byla konzumována nejvyšší dávka, došlo k rozšíření slepého střeva, což bylo doprovázeno častými průjmy. Dále byl hlášen pokles koncentrace močoviny v plazmě a pH moči a zvýšení alkalické fosfatázy v plazmě. V této skupině také došlo k nepatrnému nárůstu deprese, doprovázené přechodným snížením příjmu potravy. Po celou dobu výzkumu se samci udržovali na relativně nízké tělesné hmotnosti a u samic se potvrdila zvýšená hladina bilirubinu. Avšak zmíněné účinky nelze považovat za toxické. Ostatní krysy konzumující nižší či střední dávku NHDC neprojevovaly žádné vedlejší účinky. Výzkum prokázal, že při příjmu  $750 \text{ mg.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti za den nedochází k nežádoucím účinkům. (Lina et al., 1990)

#### 3.4.2.2.2 Steviosid

Stévie rebaudiana Bertoni je známá i pod názvem stévie cukrová či medové lístky. Byla objevena v severovýchodní Paraguayi a přilehlých oblastech Brazílie. Dnes mezi hlavní pěstitele patří Čína, Japonsko, Izrael a Španělsko. (Simonsohn, 2012)

Stévie patří do čeledi Hvězdnicovitých, lat. *Asteraceae*. (Das et Kathiriya, 2012) Jedná se o malou trvalku, tedy víceletou rostlinu, která dosahuje výšky 60 až 100 centimetrů. Kořeny má mělké, válcovité a téměř se nerozvětvují. Lístky jsou vstřícného oválného a kopinatého tvaru, na jejich okrajích se vyskytují žláznaté trichomy. Stévie má drobné a bílé květy, které jsou samosterilní. Kvetou zejména v říjnu a v listopadu. Jednu rostlinu lze komerčně využívat přes pět let, kdy sklizeň může být dvakrát až třikrát za rok. Z jednoho hektaru plodiny můžeme získat 1000 až 1200 kilogramů suchých listů, z nichž vytvoříme 60 až 70 kilogramů steviosidu. (Simonsohn, 2012)

Ze stévie jsou nejcennější sušené listy nebo zelený prášek či extrakty ze zeleného prášku nebo z listů. Bílý prášek a tekutina jsou sice zdraví neškodné, ale neobsahují téměř žádné minerální a vitální látky. (Simonsohn, 2012)



Rostlina obsahuje:

- 52,84 % sacharidů
- 15,2 % vlákniny
- 11,2 % hodnotných rostlinných proteinů/polypeptidů
- 11 % steviosidu
- 5,65 % hodnotných olejů/tuků
- 2 % rebaudiosidu A
- 1,78 % draslíku
- méně než 1 % vápníku, beta karotenu, chrómu, kobaltu, železa, hořčíku, manganu, fosforu, selenu, křemíku, zinku, vitamínu C
- 7 flavonoidů, což jsou rostlinné látky působící jako antioxidanty, které pozitivně ovlivňují imunitní systém (Simonsohn, 2012)

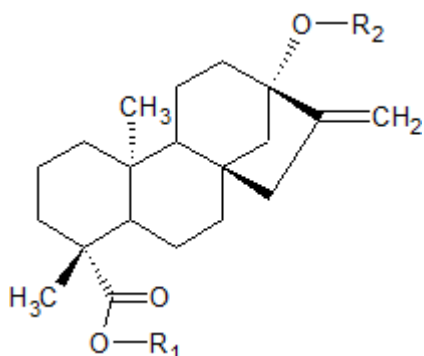
Již v době, kdy Španělé a Portugalci v 16. Století dobyli Jižní Ameriku, používali stévii indiáni kmene Guarana a v Mato Grosso. Její lístky konzumovali jako sladkost, nebo si jí sladili čaje a alkoholické nápoje, dokonce ji používali jako lék. Nazývali ji „caa hee“, což v překladu znamená „medový lístek“. Stévii klasifikoval Moisés Bertoni, nejprve roku 1899 jako Sadece- *Eupatorium* a v roce 1905 ji konečně popsal jako Stévii rebaudiana. Tento název vybral k počtě chemika Rebaudiho, který zkoumal její sladivost jako první, avšak mylně ji pojmenoval glycyrrhicin. (Simonsohn, 2012)

Steviosid patří mezi neenergetická sladidla. Značí se symbolem E960. Přijatelná denní dávka, která může být denně konzumována, je kolem 4 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Lze ji koupit pod obchodním názvem Truvia či Stévie - BIO sladidlo. (Račická, 2012) Jedná se o zdravou alternativu. Není toxická, ba naopak zdraví prospěšná. Neobsahuje žádné kalorie. Působí antibakteriálně, tudíž chrání zuby. Neovlivňuje hladinu krevního cukru, takže je bezpečná i pro diabetiky. Dále pomáhá při kandidózách, plísňích a kožních problémech. Slouží k posílení imunity, jelikož se jedná o významný zdroj vitaminů a minerálních látek. (Simonsohn, 2012)

Z chemického hlediska stévie obsahuje diterpenglykosidy, které způsobují neobvyklou sladkou chuť této rostliny. Hlavní složkou je steviosid, který je nově označován jako steviol-glykosid (Simonsohn, 2012) a je 150 – 300krát sladší než sacharóza. (Das et Kathiriya, 2012) Stévie také obsahuje rebaudiosid A, čím je jeho podíl vyšší, tím menší mají produkty ze stévie

dochuť po lékořici a lehce nahořklou příchut'. Rebaudiosid A je přibližně 250 – 450krát sladší než sacharóza. (Das et Kathiriya, 2012) Dále obsahuje rebaudiosid B až F a dulcosid A. (Simonsohn, 2012)

Sumární vzorec steviosidu je  $C_{38}H_{60}O_{18}$ . (Smith and Hong-Shum, 2003) Na terciární hydroxylové skupině při  $C_{13}$  je navázaný redukující disacharid soforóza a na  $C_4$  je vázán monosacharid, respektive beta-D-glukopyranóza. (Krutošíková, 1985)



Během posledních 40 let byla v Japonsku stévie podrobována intenzivnímu výzkumu, avšak žádná toxicita nebyla prokázána. Byl proveden výzkum na krysách, který trval tři měsíce. Krysy dostávaly extrakt ze stévie na bázi vody v koncentraci 0,28 %, 1,4 % a 7 %. Tento pokus nepotvrdil v porovnání s kontrolními skupinami jakékoli rozdíly ohledně zdravotní kondice srsti, plodnosti, příjmu potravy nebo při zkoumání moči a krve. Pouze byl zaznamenán lehký úbytek tělesné hmotnosti u krys, které dostávaly nejvyšší dávku. Podobně na tom byla studie s 50 % čistým steviosidem, která nepotvrdila žádnou odchylku od normálu. Chování, světloplachost, vyměšování i srst zvířat byla stále stejná. Tělesná hmotnost a hodnoty krve nebyly ovlivněny. Veškeré testy sledující působení steviosidu na rakovinotvorné a mutagenní účinky byly negativní. Výzkumů byla celá řada, avšak neexistuje žádná studie, která by dokazovala negativní působení na lidský organismus. (Simonsohn, 2012)

Spor o stévii začal po zveřejnění výsledků Johna Pezzuta a zaměstnanců Pharmacie College chicagské univerzity v Illinois. V roce 1985 předložily důkazy, podle nichž metabolický produkt steviosidu steviol působí jako mutagen (potenciální karcinogen). V roce 1987 bylo zjištěno, že steviol nemá žádné negativní vlivy na krysy. Steviosid a rebaudiosid A se mění na steviol působením mikroflóry slepého střeva u krys. Avšak v lidském střevu se na steviol nerozkládá, jelikož slepé střevo nemá u lidí na rozdíl od krys funkci při trávení. Neexistují žádné důvěryhodné důkazy, že by steviol měl být v lidském střevu produktem rozkladu nebo produktem metabolismu lidské střevní mikroflóry. I kdyby se steviosid

rozkládal v lidském těle na steviol, studie prokázaly, že se steviol neumí v játrech aktivovat, protože neproniká intaktními buněčnými stěnami v játrech. (Simonsohn, 2012)

### 3.4.2.3 Protein

#### 3.4.2.3.1 Thaumatin

Thaumatín je sladká přírodní bílkovina, nazývaná také jako zázračné ovoce Súdánu. Katemfe pochází z rostliny *Thaumatococcus danielli Benth*, která se běžně vyskytuje v západní Africe. (Walters, 2013) Již domorodci v dávné minulosti používali míšek ze semen k přislazování chleba, ovoce a palmového vína. Využívali i listy ke tkaní rohoží, balení potravin i jako střešní krytinu. (Valíček, 2002)

*Thaumatococcus danielli* je vytrvalá bylina z čeledi marantovitých, lat. *Marantaceae*. Lodyhy mohou dosahovat výšky až 2,5 metrů, na nichž se popínají okrouhlé až oválné listy. Květenstvím je vrcholový klas s nepravidelnými fialovými květy, plodem je trojpouzdrá tobolka červené barvy obsahující černá semena. Ta jsou obalena světle žlutým míškem rosolovitého charakteru. Právě tento míšek je zdrojem sladké chuti. (Valíček, 2002)

Thaumatín se řadí mezi neenergetická sladidla, jelikož je jeho energetická hodnota 0,008 kJ.g<sup>-1</sup>. Rovněž se značí E-kódem, lze ho najít pod číslem 957. Je přibližně 3000krát sladší. (Račická, 2012) Thaumatín byl původně povolen jako přírodní potravinářská přídatná látka v Japonku roku 1979. Později byla schválena ve Velké Británii a Austrálii a byla zahrnuta do EU směrnice sladidel. Hodnota ADI nebyla specifikována. Maximální množství thaumatínu bylo stanoveno v cukrovinkách na 50 mg.kg<sup>-1</sup>, u doplňku stravy je hodnota kolem 400 mg.kg<sup>-1</sup> a u zmrzlin se sníženým obsahem cukru nebo bez přidaného cukru je hodnota 50 mg.kg<sup>-1</sup>. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Rostlina produkuje proteiny, nejdůležitějšími složkami jsou thaumatín I a thaumatín II, s téměř stejnou molekulovou hmotností 22 000 Daltonů. Thaumatín I a II mají velmi podobnou aminokyselinovou sekvenci, liší se pouze v pěti zbytcích. Thaumatín se skládá z glycinu, threoninu, alaninu, serinu, argininu, asparagové kyseliny, prolinu, lysinu, fenyلالaninu, asparaginu, valinu, leucinu, isoleucinu, tyrosinu, glutamové kyseliny, glutaminu, tryptofanu a methioninu. Bílkovina je stabilizovaná osmi disulfidickými můstky, tudíž poskytuje větší stabilitu vůči teplu a pH denaturaci. Tyto můstky zajišťují správné udržení proteinového řetězce, což vyvolává sladkou chuť. Jakmile dochází ke štěpení i jednoho disulfidického můstku, sladká chuť se snižuje. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

Thaumatococcus danielli se získává vodnou extrakcí semeníku plodu přírodního druhu *Thaumatococcus danielli* a skládá se v podstatě z bílkovin thaumatin I a thaumatin II spolu se stopovým množstvím rostlinných složek pocházející z výchozího materiálu. Jedná se o polypeptid z 207 aminokyselin. Krémově zabarvený prášek bez zápachu s intenzivní sladkou chutí, který je rozpustný ve vodě a nerozpustný v acetonu. (Směrnice 60/ES, 2008)

Pro schválení thaumatococcinu bylo provedeno několik studií. Zjišťovala se subakutní toxicita u potkanů a psů, dále schopnost produkovat anafylaktické protilátky. Potkanům a psům byla podávána potrava s thaumatococcinem o koncentraci 0%, 0,3 %, 1,0 % a 3,0 % po dobu 3 týdnů. Zúčastnily se krysy od 6. až 15. týdne těhotenství, kterým se podávalo 0, 200, 600 a 2000 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti. Bylo prokázáno, že nemá teratogenní účinky a nevyskytují se dominantní letální mutace. (O'Donnell et Kearsly, 2012)

### 3.5 Metody stanovení

Existuje spousta metod, kterými lze sladidla v různých potravinách stanovit. Tyto metody jsou založeny na různých analytických technikách zahrnující vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii, iontovou chromatografii, chromatografii na tenké vrstvě, plynovou chromatografii, kapilární elektroforézu, průtokovou injekční analýzu, elektroanalytické a spektroskopické metody. Nicméně, většina z nich jsou vhodná pouze pro stanovení jednoho sladidla nebo jednodušších směsí sladidel (dvou až čtyř sloučenin).

Nejběžnější metoda pro stanovení několika sladidel je chromatografická metoda, zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Avšak má i své negativní vlastnosti. Hlavním problémem při stanovení směsí sladidel jsou skupiny analytů, které mají odlišné fyzikálně-chemické, elektrochemické a spektrální vlastnosti. Z tohoto důvodu, existuje velmi omezený výběr z detekčního systému schopný zaznamenat sloučeniny z různých chemických skupin v jedné analýze. Nejčastěji užívaný detektor ve spojení s HPLC je spektrofotometrický detektor, který umožní detekci většiny neenergetických sladidel, jako je acesulfam K, aspartam, alitam, neotam, neohesperidin dihydrochalkon a sacharin. Avšak cyklamát a sukralóza neabsorbují UV záření či viditelný rozsah z důvodu chybějící chromoforové skupiny, tudíž v tomto případě není vhodná UV detekce.

V posledních letech také získala velké uznání vysokoúčinná kapalná chromatografie s hmotnostní spektrometrií (HPLC/MS) v oblasti kontroly kvality potravin. Zmíněná metoda umožňuje stanovit šest umělých (acesulfam K, aspartam, cyklamát, sacharin a sukralóza) a dvě přírodní sladidla (steviosid a rebaudiosid A). (Zygler et al., 2011)

## **3.6 Zdravotní omezení**

### **3.6.1 V těhotenství**

Existuje poměrně malé množství výzkumů na konzumování sladidel v době těhotenství. Avšak Národní výbor pro výživu Kanadské Diabetické Asociace provedl několik studií, kde bylo zjištěno, že v této době není vhodné užívat sacharin a cyklamát. U ostatních sladidel nebyl prokázán žádný negativní účinek, pokud jsou konzumována ve správném množství.

Všechny studie byly provedeny na zvířatech, jelikož z etických důvodů se nemohou provádět na těhotných a kojících ženách. U sacharinu byl prokázán průnik přes placentu a zpomalení metabolismu plodu. Dále zůstává v tkáních plodu déle než v těle dospělých. (Gougeon et al., 2004)

### **3.6.2 U dětí**

Bylo provedeno malé množství studií na získání dat ohledně doporučeného množství konzumace uměle slazených nápojů a potravin pro děti. Z tohoto důvodu jsou hodnoty ADI odborných lékařských společností velmi rozporuplné.

Americká Dietetická Asociace uvádí, že užívání umělých sladidel u dětí je bezpečné pouze tehdy, pokud je dodržována přijatelná denní dávka. Rozdílný názor panuje u Institutu medicíny, který varuje před užíváním umělých sladidel u dětí. IOM prokázal, že při konzumaci nápojů s umělými sladidly dochází k vytěsnění mléka a 100% šťávy z jídelníčku dětí. (odmítají je konzumovat). Kromě toho uvedla, že je zapotřebí více studií o účinnosti umělých sladidel pro regulaci tělesné hmotnosti a bezpečnostních účinků, pokud jsou umělá sladidla konzumována od dětství po mnoho let. Podobný názor má Americká Akademie Pediatriů, která uvádí, že umělá sladidla nejsou dostatečně studována, a proto by neměla tvořit významnou část dětského jídelníčku. Nicméně, tato prohlášení nejsou specifická a neposkytují doporučené užívání sladidel v dětské populaci. (Sylvetsky et al., 2012)

### **3.6.3 U diabetu**

Diabetes mellitus neboli cukrovka je onemocnění, při kterém tělo nedokáže správně hospodařit s glukózou (hroznovým či krevním cukrem). Glukóza je hlavním zdrojem energie. Hladina v krvi se označuje glykémie. U zdravého jedince se glykémie pohybuje v rozmezí od 3,3 až 6 mmol.l<sup>-1</sup>. Hospodaření glukózy je primárně řízeno hormonem inzulinem, dále

glukagonem a adrenalinem. Jedná se tedy o poruchu, při které stoupá hodnota glykémie. Rozlišujeme několik druhů diabetu. Nejdůležitější jsou dva z nich, které označujeme Diabetes mellitus 1. typu a Diabetes mellitus 2. typu.

Diabetes mellitus 1. typu vzniká z malé až žádné tvorby inzulínu, není spojen s nadváhou. Většinou se vyskytuje v dětství, dospívání, výjimečně ve zralém věku. K léčbě slouží inzulín v injekcích.

Diabetes mellitus 2. typu vzniká ztrátou vnímavosti k inzulínu. Častá je zde nadváha. Typická u starších lidí, vzácně vzniká i dříve. U léčby je důležitá snaha k obnovení vnímavosti k inzulínu, lze toho dosáhnout redukčními dietami, tabletami zvyšující vnímavost, či tvorbou inzulínu a při neúspěchu se podává inzulín v injekcích. (Lebl, 1998)

Pro diabetiky jsou nejvhodnější syntetická náhradní sladidla, jelikož při použití přírodních sladidel je nutno připočítat energetickou hodnotu přírodních sladidel do celkového příjmu energie a vyvážit ji příslušnou dávkou inzulínu. (Doležal, 2009)

Pro diabetiky je vhodná například sukralóza. I přesto, že obsahuje 391 kcal/100g, což je o něco více než běžný cukr, ale vzhledem k vysokému sladicímu účinku, lze použít jen nepatrnou část. (Housová, 2007)

## 4 Závěr

Sladidla jsou pro určitou populaci nezbytnou součástí života, proto by jim měli lidé věnovat více pozornosti. Avšak brát v potaz, že určité mediální zdroje nemusí být vždy důvěryhodné, proto byl zde sepsán literární přehled o vybraných sladidlech, která jsou nízko- a neenergetická.

Hlavním cílem této bakalářské práce je odhalit, zda je jejich užívání bezpečné nebo jsou příčinami mnoha nemocí. Na základě provedených výzkumů vyplývá, že užívání sladidel je bezpečné pouze v případě, je-li dodrženo doporučené denní dávkování. Doporučené denní dávkování je u jednotlivých sladidel rozdílné, většinou se jedná o vyšší dávky, tudíž se lidé nemusí obávat, že by dané množství překročili. Nicméně v určitých státech jsou některá sladidla zakázána nebo je jejich užívání omezeno. Případné riziko lze také snížit vzájemným kombinováním těchto sladidel.

## 5 Seznam literatury

Castell, L. M., Stear S. J., Burke L. M. 2015. *Nutritional Supplements in Sport, Exercise and Health: An A-Z Guide*. Routledge, Taylor & Francis Group. New York. p. 420. ISBN: 1138777641.

Česko. Vyhláška č. 4 ze dne 23. ledna 2008, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. In: *Sbírka zákonů České Republiky*. Částka 3. 258 s. [cit. 2015-12-26]. Dostupné také z: <<http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/100064993.html>>

Čopíková, J., Moravcová, J., Wimmer, Z., Opletal, L., Lapčík, O., Drašár, P. 2013. Náhradní sladidla. *Chemické listy*. 107. 867–874. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <[http://chemicke-listy.cz/docs/full/2013\\_11\\_867-874.pdf](http://chemicke-listy.cz/docs/full/2013_11_867-874.pdf)>

Das, K., Kathiriya A. 2012. Hepatoprotective activity of *Stevia rebaudiana* Bert. Leaves against thioacetamide induced toxicity. *Turkish Journal of pharmaceutical science*. 9 (3). 343-352.

Doležal, M. 2008. Sladidla používaná ve farmacii a potravinářství; 1. Přírodní sladidla. *Praktické lékárenství*. 4 (6). 306–308. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <<http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2008/06/09.pdf>>

Doležal, M. 2009. Sladidla používaná ve farmacii a potravinářství; 2. Syntetická sladidla. *Praktické lékárenství*. 5 (1). 29-31. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <<http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2009/01/07.pdf>>

EU. Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2008. L 354. 16-33. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:CS:PDF>>



EU. Nařízení komise (EU) č. 497/2014 ze dne 14. května 2014, kterým se mění příloha II nařízení Komise (EU) č. 231/2012, pokud jde o použití advantamu jako sladidla. Částka OJ L 143. 6-13. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z:

<<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32014R0497>>

EU. Směrnice komise 2008/60ES ze dne 17. července 2008, kterou se stanoví specifická kritéria pro čistotu náhradních sladidel pro použití v potravinách. 2008. Částka OJ L 158. 17–40. [cit. 2015-12-26]. Dostupné také z:

<<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32008L0060>>

Gougeon, R., Spidel, M., Lee, K., Field, Ch. 2004. Canadian Diabetes Association National Nutrition Committee Technical Review: Non- nutritive Intense Sweeteners in Diabetes Management. Canadian Journal of diabetes. 28 (4). 385-399.

Grenby, T. H. 1996. Advances in Sweeteners. Blackie academic & professional. New York. p. 287. ISBN 0 7514 0331 8.

Haluzík, M. 2014. Umělá sladidla a diabetes. Obesity News. 3. 4.

Housová, J. 2007. Sukralóza- vynikající objev dílem náhody. Obesity news. 16. 6.

Informační centrum bezpečnosti potravin. Sladidla a mezinárodní legislativa [online]. Ministerstvo zemědělství. 28. srpna 2004 [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/sladidla-a-mezinarodni-legislativa.aspx>>

Jain, N. K., Roy, I. 2009. Effect of trehalose on protein structure. Protein science. 18 (1). 24–36.

Jonáš, J., Kuchař, J. 2013. Zdraví v ohrožení: hořká pravda o sladkém cukru. Eminent. Praha. 239 s. ISBN: 978-80-7281-464-0.

Katz., D. L. 2012. Nutrition in Clinical Practise. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. p. 592 ISBN: 978-1-58255-821-9.

- Kawamura, Y. 2004. D-tagatose. Chemical and Technical Assesment. 1-3. [cit. 2015-12-26]. Dostupné také z: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/61/Tagatose.pdf>
- Klesch, V., Hrnčířiková, I., Mandelová, L. 2006. Ěčka v potravinách. Computer Press. Brno. 108 s. ISBN: 80-251-1292-6.
- Krutošíková, A., Uher, M. 1985. Přírodní a syntetické látky sladkej chuti. Pokroky chemie. VEDA. Bratislava. 160 s.
- Lebl, J. 1998. Abeceda Diabetu. Maxdorf. Praha. 170 s. ISBN: 80-85800-86-1.
- Levin, G. V. 2002. Tagatose, the New GRAS Sweetener and Helath Product. Journal of medicinal food. 5 (1). 23-36.
- Lina, B. A. R., Dreef-van der Meulen H. C., Leegwater D. C. 1990. Subchronic (13-week) oral toxicity of neohesperidin dihydrochlacone in rats. Food and Chemical Toxicology. 28 (7). 507–513.
- Mortensen, A. 2006. Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. Scandivian Journal of food and nutrition. 50 (3). 104–116.
- Nabors, L. O. 2001. Alternative sweeteners. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 553. ISBN: 0-8247-0437-1.
- Nabors, L. O. 2011. Alternative Sweeteners. 4th ed. CRC Press. Boca Raton. p. 587. ISBN: 978-1-4398-4614-8.
- O'Donnell, K., Kearsly, M. 2012. Sweeteners and sugar alternatives in food technology. 2nd ed. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa. 484 p. ISBN 978-0-470-65968-7.
- Račická, E. 2012. Náhradní sladidla, jejich místo v současné diabetologii. Interní medicína pro praxi. 14 (8 a 9). 331-335. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z: <<http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2012/09/09.pdf>>

Simonsohn, B. 2012. Stévie: přírodní alternativa cukru a sladidel. Ikar. Praha. 238 s. ISBN: 978-80-249-2127-3.

Smith, J., Hong-Shum, L. 2003. Food additives data book. Blackwell Science. Oxford. p. 1016. ISBN: 0-632-06395-5.

Smrčková, Š., Bindzar, J. 2014. Náhradní sladidla jako polutanty vody. Chemické listy. 108. 1125-1132. [cit. 2015-12-26]. Dostupné z:

<file:///C:/Users/Sprava/Downloads/NS-polutanty-vody%20(1).pdf>

Suková, I. Trehalóza pro snížení rizika vývoje metabolického syndromu [online]. Informační centrum bezpečnosti potravin. 28. března 2011 [cit. 2016-03-08]. Dostupné z: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/trehaloza-pro-snizeni-rizika-vyvoje-metabolickeho-syndromu.aspx>>

Sylvetsky, A., Rother, KI., Brown, R. 2011. Artificial sweetener use among children: epidemiology, recommendations metabolit outcomes, and future directions. Pediatric Clinics of North America. 58 (6). 1467-1480.

Takayama, S., Thorgeirsson U., Adamson R. 2008. Chemical carcinogenesis studies in nonhuman primates. Proceedings of the Japan Academy, Series B Physical and biological sciences. 84(6). 176-188.

Valíček, P. *Thaumatococcus daniellii* [online]. První český zdravotnický portál. 15. února 2002 [cit. 2015-12-26]. Dostupné z:

<<http://medicina.cz/clanky/4218/34/Thaumatococcus-daniellii/>>

Vrbová, T. 2001. Víme, co jíme? Aneb: Průvodce „ěčky“ v potravinách. EcoHouse. Praha. 280 s. ISBN: 80-238-7504-3.

Walters, E. 2013. The sweetener book. Gale Walters Publishing. Lindenhurst. p. 102. ISBN: 978-0989109208.

Whysner, J., Williams, G. M. 1996. Saccharin Mechanistic Data and Risk Assessment: Urine Composition, Enhanced Cell Proliferation, and Tumor Promotion. *Pharmacology & Therapeutics*. 71 (1-2). 225-252.

Winklerová, D., Vrkoslavová, J. Seznam povolených přídatných látek [online]. Státní zdravotní ústav. 9. února 2012 [cit. 2015-12-26] Dostupné z: <[http://www.szu.cz/uploads/documents/czpz/vyziva/legislativa/E\\_kody.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/czpz/vyziva/legislativa/E_kody.pdf)>

Zygler, A., Wasik, A., Kot-Wasik, A., Namieśnik J. 2011. Determination of nine high-intensity sweeteners in various foods by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 400(7). 2159-2172.

---

Vzorce vytvořené v programu: ChemSketch

## 6 Seznam zkratek

<b>ADI</b>	(Acceptable daily intake): Akceptovatelný denní příjem
<b>FAO</b>	(Food and Agriculture Organization) Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství
<b>WHO</b>	(World Health Organization): Světová zdravotnická organizace
<b>JECFA</b>	(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva
<b>EFSA</b>	(European Food Safety Authority): Evropský úřad pro bezpečnost potravin
<b>FDA</b>	(Food and Drug Administration): Úřad pro kontrolu potravin a léků (USA)
<b>EU SCF</b>	(EU Scientific Committee on Food): Výzkumný výbor pro potraviny
<b>FSANZ</b>	(Food Standards Australia and New Zealand) Úřad pro kontrolu potravin v Austrálii a na Novém Zélandu
<b>GRAS</b>	(Generally Recognized as Safe): Látky všeobecně považované za bezpečné
<b>IOM</b>	(Institute of Medicine): Institut medicíny