Kemija umjetnih sladila-analiza dijetetskih pića HPLC-om

Gale, Angelo

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:051631

Rights / Prava: Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Science

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Angelo Gale

KEMIJA UMJETNIH SLADILA – ANALIZA DIJETETSKIH PIĆA HPLC-om

Završni rad

Split, 2015.

Ovaj rad izrađen u Splitu, pod vodstvom doc. dr. sc. Renate Odžak predan je na Odjel za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnika nutricionizma.

Sadržaj:

1. UVOD 1
2. RAZRADA TEME 2
2.1. Ugljikohidrati ili šećeri 2
2.1.1. Važnost ugljikohidrata 2
2.1.2. Ciklizacija monosaharida 3
2.1.3. Osjetilna svojstva ugljikohidrata 4
2.2. Zaslađivači ili sladila 5
2.2.1. Podjela sladila 6
2.3. Kemija umjetnih sladila 8
2.3.1. Visoko fruktozni kukuruzni sirup / glukozno-fruktozni sirup 10
2.3.2. Šećerni alkoholi ili polioli 12
2.3.2.1. Sorbitol (D-glucitol) 12
2.3.2.2. Ksilitol 13
2.3.3. Saharin 15
2.3.4. Natrijev ciklamat 17
2.3.5. Aspartam 18
2.3.5.1. Superaspartam 21
2.3.5.2. Neotam 21
2.3.6. Sukraloza 22
2.3.7. K-acesulfam 24
2.3.8. Alitam 25
3. ANALIZA DIJETETSKIH BEZALKOHOLNIH PIĆA HPLC-om 26
3.1. Postupak 27
3.2. Rezultati 28
4. SAŽETAK 30
5. LITERATURA 30

1. UVOD

Činjenica je da svi jedemo previše šećera i da time ugrožavamo zdravlje. Opće je poznato da je šećer glavni uzrok kvarenja zubi. Nadalje, debljina povećava rizik od srčanih bolesti, dijabetesa, visokog krvnog tlaka, žučnih kamenaca, problema s kralježnicom i artritisa. Šećer nije jedini uzrok, dakako, ali prisutnost šećera u hrani potiče apetit. Danas kada smo sve svjesniji njegove kalorijske vrijednosti te činjenice da se „omiljeni“ šećer u organizmu pretvara u „neomiljenu“ mast, tražimo alternative jer ne želimo jesti šećer, a u isto vrijeme ne želimo se odreći slatkog okusa. Kako bi smanjili kalorijski unos, šećere zamjenjujemo umjetnim sladilima koja služe kao vrlo solidna niskokalorijska zamjena. Izbjegavanje ugljikohidrata u prehrani nema smisla jer su oni važne biološke makromolekule, ali zato treba biti umjeren u konzumaciji šećera. Većina zaslađivača koje poznajemo danas slučajno su otkrivena i praktički nemaju ništa zajedničko s molekulama šećera, ali se zato mogu vezati s istim receptorima na osjetilnim pupoljcima i stvoriti osjećaj slatkosti. Umjetna sladila daju jelima i pićima previše sladak okus. To može stvoriti potrebu za previše slatkom hranom te nesvjesno povećati unos ugljikohidrata [1]. Moderna znanost je posebno usmjerena istraživanju umjetnih sladila, u svrhu prevencije epidemije pretilosti u industrijaliziranim zemljama. Mnogobrojna umjetna sladila koja dolaze na tržište imaju svojih prednosti, ali i dosta mana. Najveća prednost je svakako isplativost jer se oni koriste u znatno manjim količinama od stolnog šećera, pa je manja i potrošnja. Također igraju važnu ulogu u prevenciji dijabetesa i očuvanju zdravlja zubi. Međutim, umjetna sladila povećavaju našu žudnju za slatkom hranom, a s druge strane ne zadovoljavaju potrebe organizma za ugljikohidratima što dovodi do pretjeranog unosa ostale hrane kako bi organizam kompenzirao nedostatak ugljikohidrata. Tada dolazi do kontra efekta i povećanja tjelesne mase.

Više od 20 godina koristimo umjetna sladila da bismo unosili manje kalorija, a ipak zadržali okus slatkoće. I koji je rezultat toga? Broj pretilih je sve veći, a navika jedenja stolnog šećera nije se uvelike promijenila. Unošenje umjetnih sladila u tijelo bi moglo biti potencijalno štetno te se doista postavlja i pitanje zašto ih konzumiramo. Iako dosadašnja istraživanja nisu pokazala znatnije negativne popratne pojave za naše zdravlje, teško je znati dugoročno gdje mogu „čučati“ molekule umjetnog sladila koje organizam ne prepoznaje, te kao moguća tempirana bomba čekaju da eksplodiraju. Kako takva eksplozija može djelovati na naše

zdravlje, sada je teško reći [2]. Upravo zato je važno biti informiran o kemiji umjetnih sladila i o preporučenim dnevnim količinama. ADI (acceptable daily intake) se definira kao količina tvari koja se sigurno može uzimati svakoga dana tijekom cijelog života, bez negativnih posljedica na zdravlje. Svakodnevno se provode analize proizvoda koje sadrže umjetna sladila kako bi se kontrolirala njihova primjena u industriji hrane i zato je važno čitati deklaracije prije konzumacije hrane i pića.

Cilj ovoga rada je upoznati umjetna sladila s kemijskog aspekta, kao i njihovu primjenu u prehrambenim proizvodima, posebno opisujući analizu bezalkoholnog dijetetskog pića HPLC metodom kako bi se utvrdilo postojanje umjetnih sladila u uzorku.

2. RAZRADA TEME

2.1. Ugljikohidrati ili šećeri

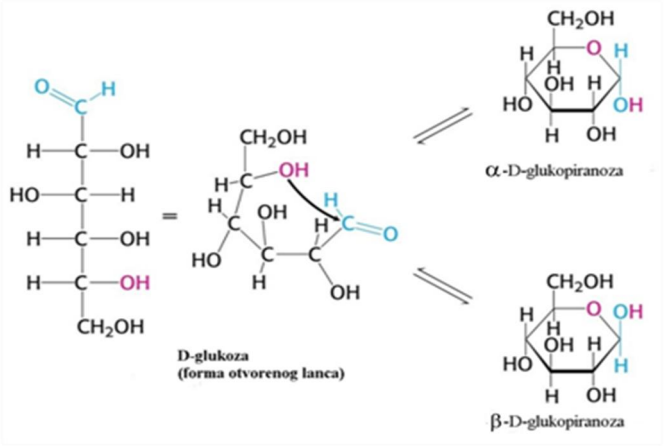
To su spojevi građeni od ugljikovodičnog lanca na kojem je vezano više hidroksilnih skupina i po jedna aldehidna ili keto skupina. Termin ugljikohidrat je nastao pogrešno jer se u početku smatralo da su spojevi s formulom $C_n(H_2O)_n$, tipičnom za ugljikohidrate, zapravo hidrati ugljika. Danas se u skupinu ugljikohidrata ubrajaju i spojevi koji odstupaju od ove formule (deoksi šećeri, amino šećeri.), ali ih karakteriziraju reakcije tipične za ugljikohidrate. Po kemijskoj prirodi su polihidroksi aldehidi i ketoni, a podijeliti se mogu na monosaharide, oligosaharide i polisaharide. Monosaharidi su najjednostavniji ugljikohidrati i to su polihidroksi aldehidi (aldoze) ili ketoni (ketoze) koji najčešće sadrže nerazgranati ugljikovodični lanac [3]. Najzastupljeniji monosaharid u prirodi je glukoza.

2.1.1. Važnost ugljikohidrata

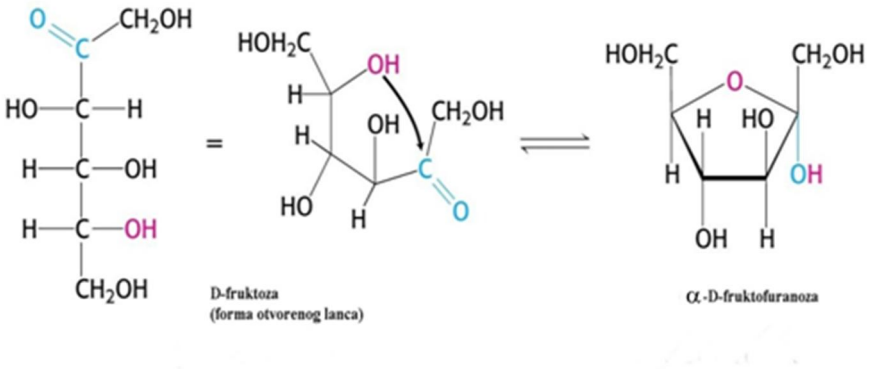
Primarna uloga ugljikohidrata je osiguravanje energije organizmu (1 g ugljikohidrata = 4 kcal = 17kJ/g). Također ulaze u sastav stanica, krvi i tkivnih tekućina, pohranjuju energiju u obliku jetrenog i mišićnog glikogena što je od iznimne važnosti za regulaciju razine glukoze u krvi, neophodni su za pravilan rad CNS-a jer hipoglikemija oštećuje mozak, sudjeluju u sintezi ne-esencijalnih aminokiselina, prekursori su važnih spojeva u organizmu (nukleinske kiseline), važni su za imunološki sustav organizma te igraju veliku ulogu u sprječavanju dehidracije organizma (vežu vodu na sebe, zadržavaju elektrolite) [4].

2.1.2. Ciklizacija monosaharida

Ovisno o konfiguraciji asimetričnog atoma ugljika s najvišim rednim brojem ugljikohidrati se svrstavaju u D-niz ili L-niz šećera. Molekule koje u Fisherovoj projekcijskoj formuli imaju hidroksilnu skupinu s desne strane, kao D-gliceraldehid svrstavaju se u D-niz, a molekule koje imaju hidroksilnu skupinu s lijeve strane, kao L-gliceraldehid svrstavaju se u L-niz šećera. Aldoze i ketoze s dovoljnim brojem atoma ugljika podliježu reakciji unutarmolekulske ciklizacije povezivanjem karbonilne i hidroksilne skupine u poluacetal (Slika 1. i 2.). Na ovaj način nastaje još jedan optički aktivan atom ugljika – anomerni ugljik. Stereoizomeri koji se razlikuju samo po konfiguraciji anomernog atoma ugljika zovu se anomeri, a jednostavni šećeri mogu postojati u α- i β- anomernom obliku [3].



Slika 1. Ciklizacija monosaharida D-glukoze (J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002)



Slika 2. Ciklizacija D-fruktoze (J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002)

2.1.3. Osjetilna svojstva ugljikohidrata

Monosaharidi i oligosaharidi te njihovi odgovarajući alkoholi imaju slatki okus. Najvažniji zaslađivači su saharoza, škrobni sirup (smjesa glukoze, maltoze i malto-oligosaharida) i glukoza. Važni su i invertni šećer (nastao hidrolizom saharoze), kukuruzni sirup s visokim sadržajem fruktoze, fruktoza, laktoza i šećerni alkoholi (sorbitol, manitol i ksilitol).

Šećeri se razlikuju po kvaliteti i intenzitetu slatkog okusa. Za razliku od drugih šećera, saharoza ima ugodan okus i pri visokim koncentracijama. Intenzitet slatkog okusa u pravilu opada porastom duljine oligosaharidnog lanca [3]. Intenzitet okusa može se opisati određivanjem praga prepoznavanja slatkog okusa ili usporedbom s referentnom tvari. Najčešće se kao referentna tvar koristi saharoza, a usporedba s ostalim sladilima prikazana je u Tablici 1.

Tablica 1. Usporedba ostalih sladila sa saharozom (http://www.slideshare.net/mArKoBK3/02-hemijski-sastav-ivog-sveta)

Šećer/ šećerni alkohol	**Relativna slatkoća**
Saharoza	**100**
Galaktitol	41
D-Fruktoza	114
D-Galaktoza	63
D-Glukoza	69
Invertni šećer	95
Laktoza	39
Maltoza	46
D-Manitol	69
D-Manoza	59
Rafinoza	22
D-Ramnoza	33
Sorbitol	51
Xylitol	102

2.2. Zaslađivači ili sladila

Zaslađivači ili sladila su tvari koje se dodaju hrani i pićima u svrhu nadopunjavanja i/ili stvaranja slatkog okusa. Zbog epidemije pretilosti u industrijaliziranim zemljama raste interes za prehranom s ograničenim unosom kalorija, odnosno sa smanjenim unosom šećera. Za razliku od šećera (saharoze) imaju nižu energetsku, odnosno kalorijsku vrijednost te su korisni svakome tko želi izbjeći šećer, a razlozi za izbjegavanje šećera su brojni – dijabetes, zdravlje zubi, gubitak kilograma, probavne bolesti (Chronova bolest), te cijena jer su umjetni zaslađivači puno isplativiji [5].

Očito postoje mnoge prednosti povezane sa upotrebom umjetnih sladila. Iako za nešto što je dobiveno sintetskim putem nikada sa 100%-tnom sigurnošću ne možemo potvrditi zdravstvenu sigurnost za zdravlje. Nedavna studija na Sveučilištu Purdue dokazala su da nisu sve prednosti uporabe umjetnih sladila takve kakvim ih ljudi smatraju. U ovim studijima, štakore su hranili dvjema različitim dijetama. Jedna skupina štakora je hranjena jogurtom koji je zaslađen saharinom, a druga skupina jogurtom zaslađenim glukozom. Rezultati bi trebali ići u korist saharina, međutim dogodilo se obrnuto. Grupa štakora hranjena jogurtom zaslađenim sa saharinom znatno više je dobila na težini. Nije razumljivo zašto se to dogodilo, ali su onda znanstvenici predložili da se toj grupi štakora ponudi nešto slatko i budući da nisu imali ugljikohidrata, ovi štakori su jeli više druge dostupne hrane. S druge strane, štakori hranjeni jogurtom zaslađenim glukozom imali su dostupne ugljikohidrate i nisu jeli tako puno drugu hranu. Prerano je zaključiti da se ove studije mogu primijeniti i na ljude, ali je svakako za zamisliti se [6].

Zaslađivači obuhvaćaju:

- Zamjene za šećer - tvari slične slatkoće kao saharoza s približnom ili nižom kalorijskom vrijednošću u odnosu na istu količinu. Metabolički put razgradnje u organizmu se razlikuje od saharoze, a izvorno su sastojci biljaka ili se proizvode iz prirodnih sirovina
- Umjetna sladila - proizvode se sintetskim putem ili se nalaze u biljkama, a nekoliko su desetaka do stotina puta slađi od šećera i imaju zanemarivu kalorijsku vrijednost

2.2.1. Podjela sladila

Sladila možemo podijeliti u hranjiva i nehranjiva sladila, te umjetna i prirodna sladila. (Tablica 2. i 3.)

- Hranjiva sladila – sladila koja uzeta u potrebnoj količini za zaslađivanje jela i/ili pića daju energetsku vrijednost koju treba uzeti u obzir. To su svi monosaharidi i disaharidi. Među njima se ističu glukoza i fruktoza kao monosaharidi, te saharoza kao disaharid. Valja spomenuti dekstrozu, te sorbitol, manitol i ksilitol.
- Nehranjiva sladila – sladila koja primjenom u hrani i/ili pićima nemaju nikakvu energetsku vrijednost i ne podižu razinu glukoze u krvi, a imaju široku primjenu kao tvari za zaslađivanje. To su: saharin, ciklamat, aspartam, thaumatin, acesulfam-K, steviozid i glicirizin. U preporučenim dnevnim količinama (ADI) su neškodljiva, a u većim količinama određena sladila mogu biti toksična i štetna [11].

Tablica 2. Hranjiva i nehranjiva sladila (http://www.zzjzpgz.hr/nzl/9/sladilo.htm)

NEHRANJIVA I ZANEMARIVO HRANJIVA SLADILA				
Trgovački naziv	**Kemijski sastojak**	**Preporučena ADI doza**	**Energetska vrijednost**	**Termostabilnost**
Saharin	Benzosulfimid	10 tableta	0	NE
Sladicin uz dodatak saharina	Ciklamat-natrij ili ciklamat-kalcij	10 tableta	0	DA
Natreen	Ciklamat-saharin u odnosu 10:1	20 tableta	0	DA (kuhanje i pečenje)
Aspartam, Diekal, Nutra-sweet	Aspartam	50 tableta i više	jedna tableta 0,35 kcal ili 1,46 kJ	kuhanje najduže dvije minute
IZRAZITO HRANJIVA SLADILA				
Fruktoza, voćni šećer	Fruktoza	50 g	u 50 g ima 405 kcal	DA (kuhanje i pečenje)
Sladial, Diabit	Sorbitol, ili sorbit s dodatkom saharina	30 g	u 30 g ima 390 kcal ili 1622 kJ	DA (kuhanje i pečenje)

Tablica 3. Umjetna i prirodna sladila

UMJETNA	PRIRODNA
Saharin	Xylitol
Ciklamat	Stevia
Aspartam	Manitol
Sukraloza	Maltitiol
Acesulfam-K	Sorbitol
Neotam	Med
Sladicin	Javorov sirup
Natreen	Agavin sirup
Superaspartam	Melasa
Polioli	Saharoza
Alitam	HFCS
	Monellin
	Thaumatini
	Curculin i Miraculin
	Guanidini

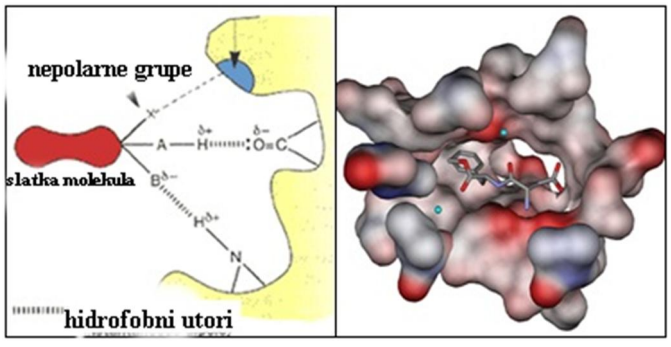
U svrhu zamjene šećera u hrani koriste se tvari kao što su umjetna sladila koja se dobivaju kemijskim putem i polioli koji se nalaze u prirodi, a kemijskim putem se prerađuju. Umjetni zaslađivači su prirodni, međutim češće sintetski spojevi od kojih su neki i nekoliko stotina puta slađi od stolnog šećera – saharoze. Zbog malog kalorijskog sadržaja sveprisutni su u industrijski procesuiranoj hrani [7]. Danas je znanstvena javnost podijeljena vezano za neškodljivost pri dugoročnoj primjeni umjetnih zaslađivača. Većina tih zaslađivača su nus produkti kemijskih pokusa koji su bili povezani s nečim sasvim drugim, tako da sama činjenica kako su to industrijske tvorevine izaziva sumnju nekih ljudi [8]. Na tržište najčešće dolaze kao natrijeva, kalcijeva ili kalijeva sol sladila.

Prirodna sladila su dobivena preradom biljke ili dijelova biljke, te sadrže određenu kalorijsku vrijednost, obično jednaku ili nešto nižu od saharoze (izuzetak: fruktoza je 40-60 % slađa od saharoze, ovisno u kojoj formi se nalazi). Osobe koje sumnjaju u štetnost umjetnih sladila, uvijek imaju alternativu – prirodna sladila.

2.3. Kemija umjetnih sladila

Potreba za slatkom hranom postoji otkad je i čovjeka. Ona nastaje kao posljedica nedostatka određenih nutrijenata (ugljikohidrata → energije) ili zbog toga što se prilikom konzumiranja slatke hrane oslobađa hormon serotonin koji nas čini sretnima i zadovoljnima. Razna istraživanja su pokazala kako je slatki okus zapravo genetski i evolucijski uvjetovan. Djeca čim probaju nešto slatko (npr. sladoled, čokoladu) lako postanu „ovisna“ i stalno žele konzumirati slatko, dok na primjer slani okus teško raspoznaju sve do svoje 4. godine [9]. Naša žudnja za šećerom, bilo da ga dodajemo u hranu ili piće, je zapanjujuća. Čak i kad odaberemo hranu za koju smatramo da ne sadrži puno šećera, mi zapravo unosimo velike količine šećera jer pregled na nutritivne tablice koje se nalaze na proizvodima i popis sastojaka će otkriti da je šećer jedan od glavnih sastojaka [6]. Paradoksalno je to da ljudi koliko god su opsjednuti potrebom za dijetama, toliko su i opsjednuti potrebom za šećerima u prehrani. Kao rezultat toga uslijedila je potraga za nekaloričnom zamjenom za prirodni šećer, što danas u svijetu predstavlja multimilijunski posao [6].

Kako bi osjetili slatki okus, molekula za slatko se mora uklopiti u okusni pupoljak na jeziku gdje živčani impuls može prenijeti poruku slatkoće od jezika do mozga [6]. Poznato je da se spojevi sa slatkim okusom povezuju s odgovarajućim receptorom vodikovim vezama između kisele i bazične funkcionalne skupine spoja i odgovarajućih skupina na molekuli receptora, a vezanju pridonosi i optimalno smještena hidrofobna skupina. Predloženo je postojanje hidrofobnog utora na receptoru sa bar osam aminokiselina koje su uključene u formiranje veznog utora s komplementarnim funkcionalnim skupinama za vezanje spoja sa slatkim svojstvima (Slika 3.). Zbog sinergističkog efekta često smjese slatkih spojeva pokazuju viši intenzitet slatkog okusa od zbroja djelujućih komponenti [3].

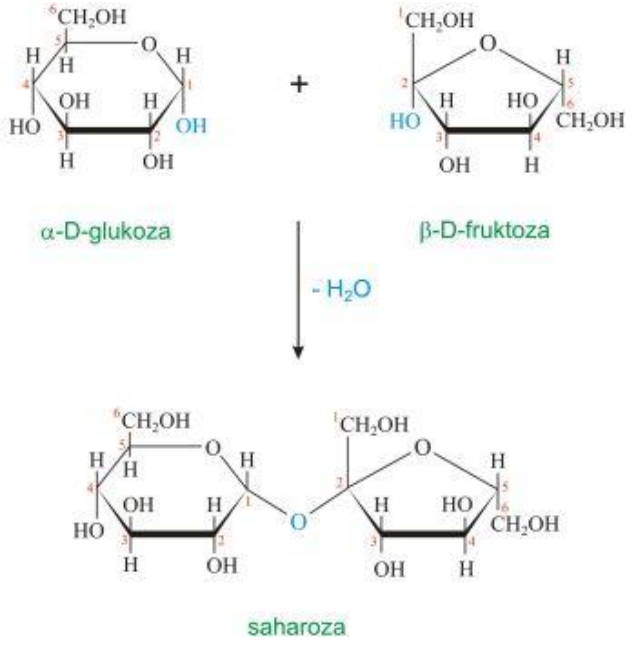


Slika 3. Hidrofobni vezni utor za vezanje spoja sa slatkim svojstvima (J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002)

Međutim, neće svi prirodni šećeri izazvati jednak živčani odgovor. Neki šećeri, kao što je glukoza, imaju relativno blag okus, a drugi, kao što je fruktoza, izazivaju jako sladak okus. Fruktoza ustvari ima slađi okus nego stolni šećer ili saharoza. Osim toga, sposobnost da se percipiraju slatke tvari je individualna. Odnos između percipirane slatkoće i molekularne strukture sladila je vrlo kompliciran i prilično slabo razumljiv. Još se traže odgovarajući spojevi za ovu upotrebu, a potraga je kompliciran zbog još potpuno nerazjašnjenog odnosa između strukture spoja i intenziteta slatkog okusa, sve viših sigurnosnih kriterija i zahtjeva kao što su odgovarajuća topljivost, stabilnost i čistoća okusa [6].

Najčešće korišteni zaslađivač je naravno stolni šećer ili saharoza. Saharoza je disaharid koji se sastoji od jedinice glukoze i jedinice fruktoze povezanih α-1,2-glikozidnom vezom. Saharoza je pročišćena i kristalizirana iz sirupa koji je ekstrahiran iz biljaka kao što je šećerna trska ili šećerna repa [6]. Hidroliza saharoze daje nam jednu molekulu D-fruktoze i jednu molekulu D-glukoze (Slika 4.). Ova hidroliza je katalizirana pomoću enzima invertaze i kao produkt nastaje smjesa poznata kao invertni šećer. Hidroliza saharoze se naziva inverzija jer daje ekvimolarne količine glukoze i fruktoze, te se zakretanje polariziranog svijetla mijenja od pozitivnog, u otopini saharoze do negativnog, u otopini invertnog šećera. Do te promjene dolazi jer je negativno zakretanje fruktoze više od pozitivnog zakretanja glukoze. Invertni šećer je nešto slađi od saharoze zbog prisutnosti slobodne fruktoze [3].

Med je sastavljen uglavnom od invertnog šećera što je razlog da je tako slatkog okusa.



Slika 4. Sinteza i kemijska struktura saharoze (http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=sucrose)

2.3.1. Visoko fruktozni kukuruzni sirup / glukozno-fruktozni sirup

(engl. HFCS = High Fructose Corn Syrup)

Sladilo koje se često koristi kao zamjena za saharozu, postalo je naširoko primijenjen zaslađivač otkako je uveden sredinom 1970-ih. Masovno se dodaje u prerađenu hranu jer je jeftiniji i slađi od običnog šećera i produžava rok trajanja prerađevinama [10].

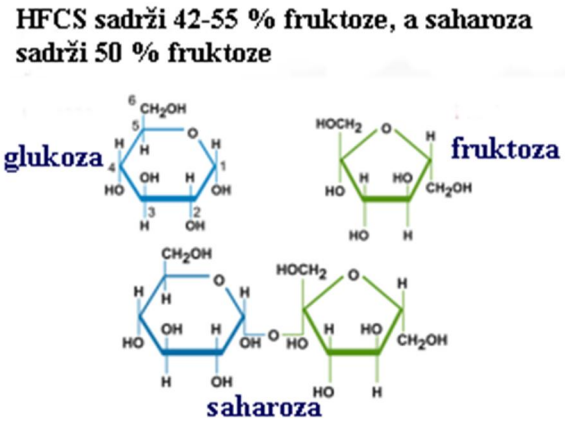
Kod nas se još naziva glukozno-fruktozni sirup ili kukuruzni sirup i prisutan je u skoro svim industrijskim prerađevinama i proizvodima za djecu – zaslađenim i gaziranim pićima, komercijalnim pekarskim proizvodima, žitaricama, jogurtima, desertima, pudinzima, keksima i slatkišima (Slika 5.). No, on je puno opasniji od samog šećera. Proizvodi se iz kukuruznog škroba enzimskom razgradnjom škroba u glukozu, a dio te glukoze se izomerizacijom prevede u fruktozu, do omjera 55:45 (odnosno 55% fruktoze i 45% glukoze)**.** Ovo ga čini puno slađim od šećera jer je fruktoza slađa od glukoze, a u običnom šećeru (saharozi) su fruktoza i glukoza prisutne u omjeru 50:50 [10].



Slika 5. Visoki udio HFCS-a u bezalkoholnim pićima (http://foodidentitytheft.com/a-resolution-to-lose-weight-might-be-as-simple-as-avoiding-hfcs-in-the-new-year/)

HFCS može imati različite postotke glukoze i fruktoze, ovisno o primjeni (Slika 6.). Tako na primjer HFCS 55 koji se koristi u bezalkoholnim osvježavajućim pićima sadrži 55% fruktoze i 42% glukoze [6].

Upotreba HFCS-a u europskoj i hrvatskoj industriji slabije je raširena nego u SAD-u, gdje se koristi zbog niže cijene od (uvoznog) šećera.



Slika 6. Različiti omjer fruktoze u HFCS-u (https://sciencepolicyivh.wordpress.com/2015/03/21/is-high-fructose-corn-syrup-worse-for-you-than-other-sugars/)

Kod saharoze, monosaharidne jedinice glukoze i fruktoze su povezane glikozidnom vezom preko anomernih ugljika, te se saharoza kao takva trenutno metabolizira i apsorbira u tankom crijevu. No, u glukozno-fruktoznom sirupu, molekule su u nevezanom obliku tako da se ovi šećeri rapidno apsorbiraju u krvotok. Fruktoza ide direktno u jetru gdje pokreće lipogenezu – proizvodnju triglicerida, što predstavlja glavni uzrok oštećenja jetre koje se naziva ”masna jetra” i pogađa milijune ljudi u zapadnim zemljama. S druge strane, glukoza iz ovog sirupa podiže razinu glukoze u krvi i potiče lučenje inzulina koji višak glukoze sprema u obliku masnih naslaga u našem tijelu. Ova kombinacija dovodi do metaboličkog kaosa koji uzrokuje povećanje apetita, debljanje, dijabetes, metabolički sindrom, masnu jetru, srčane bolesti, rak, demenciju i još puno toga (Slika 7.). Nadalje, HFCS doprinosi razvoju ovisnosti o hrani/slatkišima preko djelovanja na centre za nagrađivanje u mozgu [10].



Slika 7. Utjecaj HFCS-a na pretilost (http://kelciemahr.com/high-fructose-corn-syrup)

Nedavno su provedene dvije studije na Sveučilištu Princeton (SAD) na štakorima, gdje se polovicu štakora hranilo vodom zaslađenom s HFCS-om, a drugu polovicu vodom zaslađenu sa saharozom. Obje studije su dobile slične rezultate. Štakori hranjeni s HFCS-om su bili poprilično veći i teži, te su pokazivali neke simptome koje normalno povezujemo sa pretilošću – abdominalna masnoća i povećanje koncentracije triglicerida. Dodatne studije su potrebne kako bi se utvrdilo da li se korelacija između pretilosti i HFCS-a u štakora može primijeniti na ljude [6].

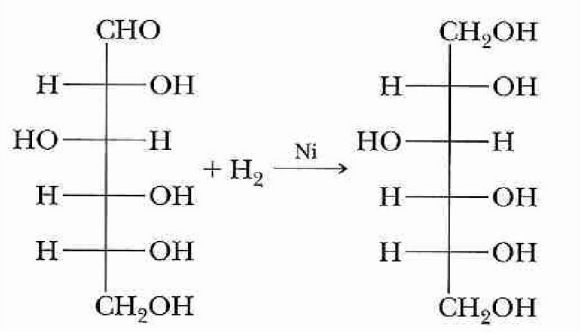
2.3.2. Šećerni alkoholi ili polioli

Šećerni alkoholi ili polioli (maltitol, manitol, sorbitol, ksilitol) su ugljikohidrati koji se prirodno nalaze u određenom voću i povrću, no mogu biti i sintetizirani. Ime šećernog alkohola izvodi se iz imena šećera zamjenom njegovog sufiksa -oza ili -uloza sufiksom -itol. Manje su slatkoće od šećera, a pripadaju skupini nutritivnih sladila jer imaju kalorijsku vrijednost, koja je jednaka ili manja od kalorijske vrijednosti saharoze [11].
Za razliku od umjetnih sladila, šećerni alkoholi podižu razinu glukoze u krvi, no kako ih organizam ne apsorbira u potpunosti njihov je utjecaj na podizanje glukoze u krvi manjeg intenziteta u usporedbi sa saharozom [11]. Koriste se kao zamjena za šećer u dijetetskim pripravcima, za smanjenje aktiviteta vode u hrani sa „srednjim sadržajem vlage“, kao omekšivači, inhibitori kristalizacije te za poboljšanje karakteristika rehidratacije dehidratizirane hrane [3].

Šećerni alkoholi se mogu naći u raznim proizvodima kao što su žvakaće gume, paste za zube, čokolade i slatkiši, a ti proizvodi često nose upozorenje o njihovom mogućem laksativnom djelovanju. Ukoliko se konzumiraju u velikim količinama mogu uzrokovati nadimanje, plinove u crijevima i proljev [11].

2.3.2.1. Sorbitol (D-glucitol)

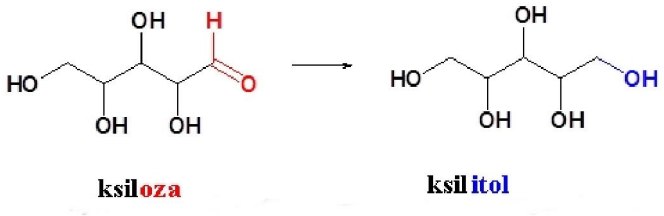
Osobe koje pate od dijabetesa posebno moraju izbjegavati šećer u njihovoj prehrani. Međutim, i oni imaju žudnju za slatkom hranom kao i svi ostali ljudi. Zaslađivač koji se koristi u prehrambenim proizvodima preporučanim dijabetičarima je sorbitol, koji je šećerni alkohol nastao katalitičkim hidrogeniranjem glukoze (Slika 8.) [6].



Slika 8. Sinteza sorbitola - hidrogeniranje glukoze (http://www.benbest.com/cryonics/protocol.html)

U popisu aditiva nalazimo ga pod oznakom E420, kemijske formule $C_6H_{14}O_6$ i molarne mase 182,17 g/mol. Sorbitol ima oko 60% slatkoće saharoze. U prirodi ga nalazimo u voću (kruške, jabuke i šljive). Čest je sastojak u proizvodima kao što su gume za žvakanje bez šećera jer nije fermentabilan šećer i puno je manja vjerojatnost da će promovirati zubni karijes. Iako je sorbitol drukčija tvar od saharoze, on i dalje posjeduje jednak broj kalorija po gramu. Stoga sorbitol nije pogodno sladilo za dijetetska pića i hranu [6].

2.3.2.2. Ksilitol



Slika 9. Kemijska struktura ksilitola u usporedbi sa ksilozom (http://luvicecream.com/sweeteners/)

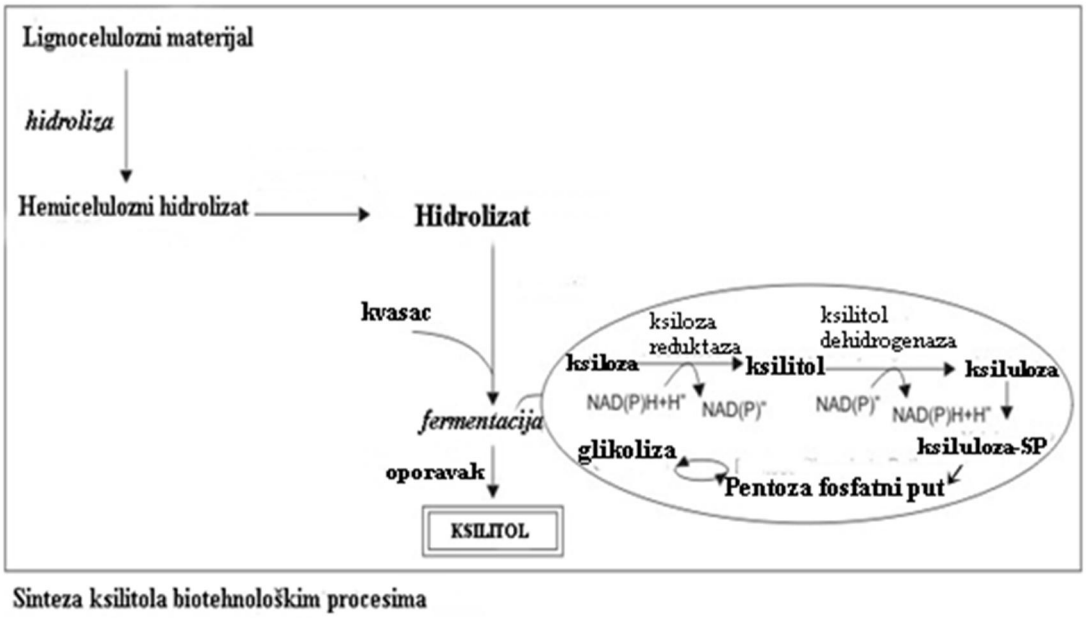
Zaslađivač, sa nekim sličnostima sorbitolu, je ksilitol (Slika 9.). Kemijske formule $C_5H_{12}O_5$ i molarne mase 152,15 g/mol. U popisu dodataka prehrani nalazimo ga pod oznakom E967. Ksilitol je prirodni polialkohol koji se može izolirati iz izvora kao što su breza i vlakna kukuruznih ljuski [6]. Ksilitol je korišten u istu svrhu kao i sorbitol – siguran je za dijabetičare i ima čak jači efekt u prevenciji zubnog karijesa jer ne fermentira i ne može se pretvoriti u kiselinu pod utjecajem bakterija u ustima, a sprječava i nastajanje zubnog plaka te štiti i remineralizira zubnu caklinu [5].



Slika 10. Primjena ksilitola na tržištu (http://www.oralcareshop.com/trident-spearmint-xylitol.htm)

Naše tijelo prirodno proizvodi ksilitol, i to oko 15 g/dnevno, pri normalnom metabolizmu. Trećina se pojedenog ksilitola apsorbira u jetri, dok ostatak odlazi prema crijevima i pod utjecajem crijevnih bakterija se razlaže u kratkolančane masne kiseline [2]

Danas se ksilitol proizvodi katalitičkim hidrogeniranjem čiste ksiloze, ekstrahirane iz drva hidrolizata. Međutim, ksilitol se također može dobiti iz agroindustrijskih ostataka biotehnološkim procesima (Slika 11.).



Slika 11. Sinteza ksilitola (http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822004000200014&script=sci_arttext)

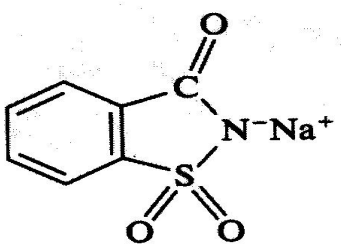
Ksilitol ima niski glikemijski indeks i sadrži 40% manje kalorija i 75% manje ugljikohidrata od saharoze. Budući da je 5-karbonski šećer, ima antimikrobiološke osobine, što sprječava rast bakterija. Pokazao se djelotvoran u zaustavljanju *Candide albicans*, kao i zloglasne

bakterije *Helicobacter pylori* te također sprječava akutne infekcije srednjeg uha. Izgledom i okusom vrlo je sličan saharozi, ali s tom razlikom što saharoza u tijelu izaziva kiselost, dok ksilitol izaziva lužnatost [2].

Međutim, unatoč pozitivnim učincima u našem tijelu ksilitol je mnogo skuplji od sorbitola i postoje dokazi o toksičnosti ksilitola u pasa.

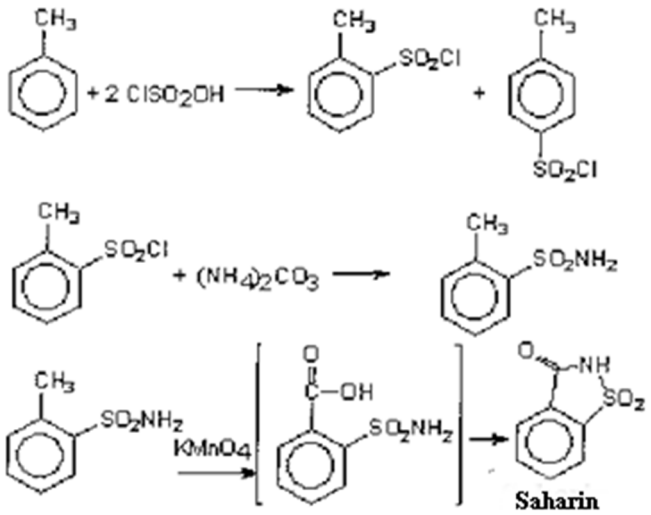
2.3.3. Saharin

Kao što su med i saharoza vezani za probleme sa zubnim karijesom, tako su i krivci u kontinuiranoj borbi protiv pretilosti i upravo iz tih razloga znanstvene studije su usmjerene potrazi za novim, nekaloričnim, neugljikohidratnim sladilom. Iako i nenutritivni zaslađivači posjeduju neke kalorije, ako su puno slatki, neće biti potrebe za korištenjem velikih količina sladila, stoga će i utjecaj na zdravlje zubi i na dijetu biti manji [6].



Slika 12. Kemijska struktura natrijeve soli saharina (L. Pavia, M. Lampman, S. Kriz, G. Engel, 5th edition, A Microscale Approach to Organic Laboratory Tehniques)

Prvi umjetni zaslađivač koji se opsežno koristi je saharin, koji se obično koristi kao njegove topljive natrijeve soli (Slika 12.). To je kemijski spoj benzosulfimid koji nema energetsku vrijednost pa je potpuno nehranjivo sladilo [12]. Kao aditiv nalazimo ga pod oznakom E954 [13]. Saharin predstavlja organsku komponentu dobivenu 1879. godine sintezom iz nafte [14]. Saharin je otprilike 300-500 puta slađi od saharoze [6]. Kemijske formule $C_7H_5O_3NS$ i molarne mase 183,18 g/mol. Otkriće saharina je bilo od velike koristi za dijabetičare zato što se može koristiti kao alternativa za šećer jer se ne metabolizira u tijelu pa je nekaloričan. Kako je stabilan pri visokim temperaturama, može se koristiti i za pečenje i kuhanje. Ne izaziva zubni karijes [6].



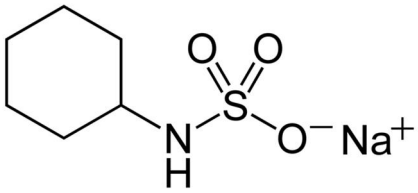
Slika 13. Sinteza saharina (http://monsanto.unveiled.info/products/aspartme.htm)

Saharin je građen od 2 spojena prstena – jedan je fenilni prsten, a drugi peteročlani prsten sadrži karbonilnu skupinu, dušikov atom u sredini (čineći prsten heterocikličnim) i sumpornu skupinu kraj dušika. Sinteza saharina započinje s toulenom, zatim se dodaje $ClSO_2OH$ tvoreći dva produkta. *Orto* produkt se koristi u sljedećem koraku gdje se dodaje amonijev karbonat. Amino skupina se supstituira s klorovim atomom i u završnom koraku se dodaju velike količine $KMnO_4$ te se uz zagrijavanje na 150°C dobije saharin (Slika 13.).

Prodaje se najčešće u kombinaciji sa ciklamatom (Slika 14.), jer ciklamat ublažava gorkast okus u ustima koji zaostaje iza saharina, a i kombinacija je slađa od pojedinačnih zaslađivača. Današnje komercijalno ime mu je *Sweet'n'Low*. Kod nas i u Europi to je *Natreen* [8]. ADI za saharin je 2,5-5 mg/kg tjelesne mase [13]. Kao čista tvar, natrijeve soli saharina imaju vrlo intenzivan slatki okus sa nešto gorkim zaostalim okusom u ustima. Zato što ima tako intenzivan slatki okus, može se koristiti u vrlo malim količinama kako bi se postigao željeni učinak. U nekim preparatima dodaje se sorbitol kako bi poboljšao taj gorki zaostali okus u ustima [6].

Dugotrajne studije na laboratorijskim životinjama pokazuju da je saharin možda kancerogen. Njegova sigurnost je dovedena u pitanje 1977. kada je prilikom jednog istraživanja otkriveno da vrlo velike doze saharina u štakora uzrokuju pojavu tumora mokraćnog mjehura i štitnjače. Naknadna ispitivanja su pokazala da se tumor javlja samo kod ekstremno visokih doza i samo u štakora, te da je saharin siguran za ljudsku upotrebu [8]. Unatoč ovom zdravstvenom riziku, vlada je dopustila uporabu saharina u hrani koja je primarno namijenjena dijabetičarima.

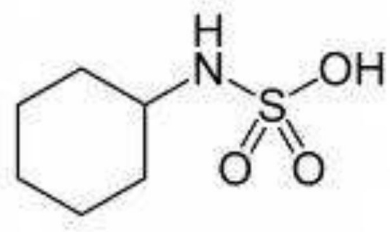
2.3.4. Natrijev ciklamat



Slika 14. Kemijska struktura natrijeva ciklamata (L. Pavia, M. Lampman, S. Kriz, G. Engel, 5th edition, A Microscale Approach to Organic Laboratory Tehniques)

Još jedan umjetni zaslađivač koji je stekao široku uporabu 1960-ih i 1970-ih je natrijev ciklamat (Slika 14.). Kemijska formula je $C_6H_{12}NNaO_3S$, a molarna masa je 201,22 g/mol. U popisu aditiva dolazi pod oznakom E952 [13]. Na-ciklamat je svega 33 puta slađi od saharoze [6].

Po kemijskoj građi pripada skupini spojeva poznatima kao sulfamati. Proizvode se kemijskom reakcijom sulfoniranja cikloheksilamina. Crijevne ih bakterije mogu razgraditi do toksičnog cikloheksilamina, te je u pokusima na životinjama uočeno da visoke koncentracije uzrokuju rak mjehura, smanjenu plodnost i da izazivaju štetne promjene na stanicama embrija. Poznato je da ciklaminska kiselina i njezine soli uzrokuju migrene [7].



Slika15. Ciklaminska kiselina (http://www.nzjz-split.hr/userfiles/Umjetna%20sladila.pdf)

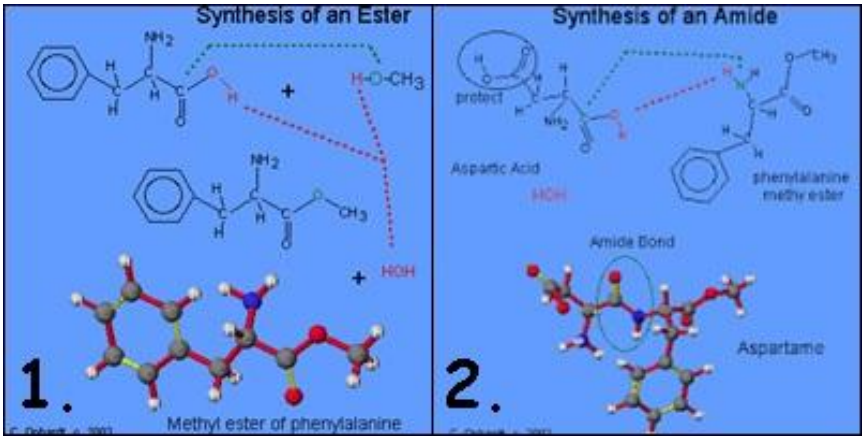
Slatki okus mnogih sulfamata poznat je od 1937. godine, kada je Sveda, laboratorijski tehničar koji je radio na lijeku za sniženje temperature odložio cigaretu na radni stol. Kada ju je ponovo stavio u usta bila je slatka od praha sa stola [15]. Na-ciklamat ima snažan slatki okus te kao i saharin dolazi u obliku natrijevih i kalcijevih soli. Dostupnost Na-ciklamata potaknula je popularnost dijetetskih bezalkoholnih pića. ADI za Na-ciklamat je 7-11 mg/kg tjelesne mase [13].

U 1970-im istraživanje je pokazalo da metabolit Na-ciklamata, cikloheksilamin, uzrokuje neke potencijalno ozbiljne zdravstvene rizike, uključujući i rizik od raka. Zbog toga je ovo sladilo povučeno sa tržišta, iako se danas smatra potpuno neškodljivim [6]. Njegova uporaba je odobrena u 50-ak zemalja (između ostalog i u Europi), a u ostalim zemljama je skinut s liste sigurnih aditiva [14].

Danas se proizvode sladila koja u određenim omjerima sadrže saharin i ciklamat. U Hrvatskoj to su Sladicin i Natreen. Sladicin je mješavina Na-ciklamata i saharina u tvornički određenom omjeru, to je naš domaći tvornički proizvod bez ikakve energetske vrijednosti. Prikladan je za slađenje jela koja se kuhaju ili peku. Natreen je uvozno sladilo koje također sadrži mješavinu saharina i ciklamata i to u omjeru 10:1 u korist ciklamata. Jedna tableta Natreena sadrži 4 mg saharina i 40 mg ciklamata. Natreen je 10 puta slađi od saharoze te mu ne smeta ni toplina ni duboko smrzavanje. Saharin se dodaje kako bi se poboljšao osjećaj slatkoće, te kako bi se smanjio gorkast okus saharina koji zaostaje u ustima. Valja još jednom naglasiti da se i saharin i ciklamat izlučuju iz ljudskog organizma potpuno nepromijenjeni preko bubrega. Ne sudjeluju u metabolizmu, nemaju nikakvu kalorijsku ni energetsku vrijednost, već samo daju osjećaj slatkoće hrani i pićima u koja se stavljaju [12].

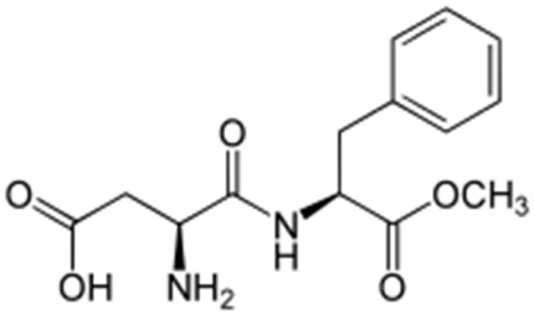
2.3.5. Aspartam

Jedan od najčešće korištenih umjetnih sladila danas je dipeptid, koji sadrži je jedinicu asparaginske kiseline povezanu s jedinicom fenilalanina. Karboksilna skupina fenilalanina prevedena je u metilni ester [6]. Kemijski naziv za aspartam je L-aspartil-L-fenilalanin metilni ester (Slika 17.). Za razliku od sintetskih sladila ciklamata i saharina, riječ je o prirodnoj aminokiselinskoj vezi (fenilalanina i asparaginske kiseline) [14]. Za razliku od saharina, sinteza aspartama je dosta jednostavnija. Spoj fenilalanina i asparaginske kiseline uz dodatak metanola daju aspartam (Slika 16.). Ova tvar je komercijalno poznata kao aspartam, ali je također prodaju pod trgovačkim imenima *NutraSweet* i *Equal* [6]. Kemijske formule $C_{14}H_{18}N_2O_5$ i molarne mase 294,3 g/mol. Kao dodatak hrani nalazimo ga pod oznakom E951 [13]. Aspartam je, za razliku od ciklamata i saharina, namirnica, a ne aditiv, jer se u organizmu razlaže kao i sve ostale aminokiseline [9].



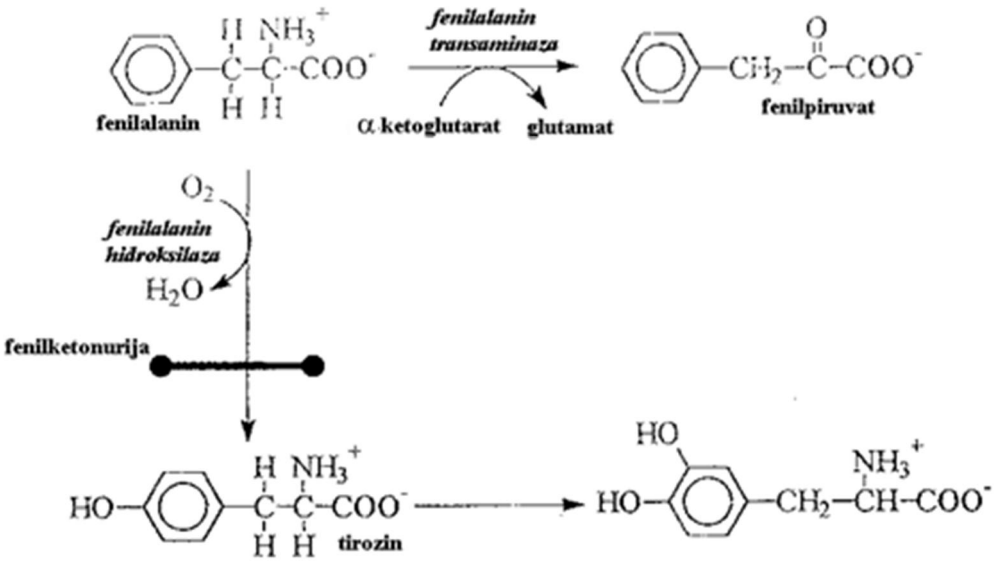
Slika 16. Sinteza aspartama
(http://chemwiki.ucdavis.edu/Biological_Chemistry/Food_Chemistry/Sweetners/Aspartame)

Aspartam je 200 puta slađi od saharoze i ima kalorijsku vrijednost 4 kcal/g (17 kJ energije), ali se upotrebljava u tako malim količinama da je ona gotovo zanemariva. Kao i većina umjetnih sladila otkriven je 1965. godine sasvim slučajno dok je jedna farmaceutska kompanija tražila lijek za čir na želucu [2]. Ima ga u dijetetskim bezalkoholnim pićima, pudinzima, žvakaćim gumama, sokovima, *light* jogurtima, u svim proizvodima sa natpisom „bez šećera“ i mnogim drugim namirnicama [16]. Pri povišenim koncentracijama nema gorak okus kao na primjer čista natrijeva sol saharina. Nažalost, aspartam nije stabilan kad se zagrije, tako da nije prikladan kao sastojak pri kuhanju i pečenju. Može se koristiti za pića koja se brzo konzumiraju a nije idealan za proizvode koji se dulje skladište ili u prehrambenim proizvodima koji se trebaju grijati. Najčešće se koristi u obliku tableta i to tako da jedna tableta zamjenjuje žličicu šećera [9]. Može se razgraditi na slobodne aminokiseline ili može ciklizirati u 2,5-dioksopiperazin. Drugi dipeptidi koji imaju slične strukture kao aspartam su mnogo tisuća puta slađi od saharoze.



Slika 17. Kemijska struktura aspartama (https://en.wikipedia.org/wiki/Aspartame)

Kada je aspartam bio razvijen kao komercijalni proizvod, povećana je i zabrinutost za potencijalno zdravstvene opasnosti povezane s njegovom uporabom. Potencijalni kancerogeni učinci aspartama, zajedno s drugim potencijalnim štetnim nuspojavama, bili su razmatrani [6]. Nakon unošenja, u organizmu se razgrađuje na prirodne spojeve fenilalanin i asparaginsku kiselinu, koji nastaju i nakon razgradnje mesa, graha, graška, boba i jaja [16]. Zbog razgradnje na fenilalanin izrazito je štetan za osobe koje boluju od fenilketonurije (PKU). To je genetski poremećaj kod kojeg je blokiran enzim koji prevodi fenilalanin u esencijalnu aminokiselinu tirozin [8]. Nakupljanje fenilalanina u živčanom tkivu uzrokuje mentalnu retardaciju (Slika 18.).

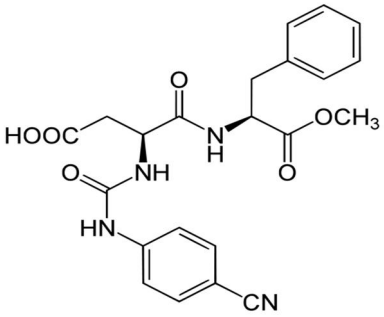


Slika 18. Fenilketonurija (http://monsanto.unveiled.info/products/aspartme.htm)

Razgradnjom ovog sladila kao nusprodukti nastaju alkohol metanol te, po kancerogenim svojstvima poznat, formaldehid [16]. Opsežna istraživanja ovog proizvoda pokazala su da je aspartam ispunio sve kriterije zdravstvenih rizika utvrđenih od strane *Food and Drug Administration* (Uprava za kontrolu hrane i lijekova), koja je dodijelila odobrenje za prodaju aspartama kao dodatka prehrani 1974. godine. Ipak, kontroverze oko aspartama se nastavljaju i često povezuju sa nekim štetnim psihološkim utjecajima kao što je depresija. ADI za aspartam je 0-40 mg/kg tjelesne težine, a za 2,5-dioksopiperazin je 0-7,5 mg/kg tjelesne težine. Prema nekim istraživanjima, osobe koje često konzumiraju to umjetno sladilo zapažaju vrtoglavicu, glavobolju, slabije pamćenje, promjene raspoloženja te probleme sa snom [2].

2.3.5.1. Superaspartam

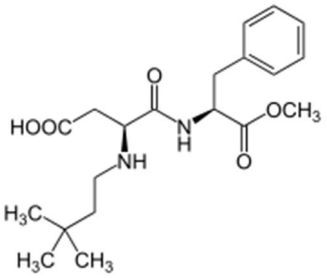
Supstitucijom slobodne aminoskupine aspartama (*p*-cijanofenil) karbonilnom skupinom dobije se superaspartam koji je znatno slađi od aspartama.



Slika 19. Superaspartam (J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002)

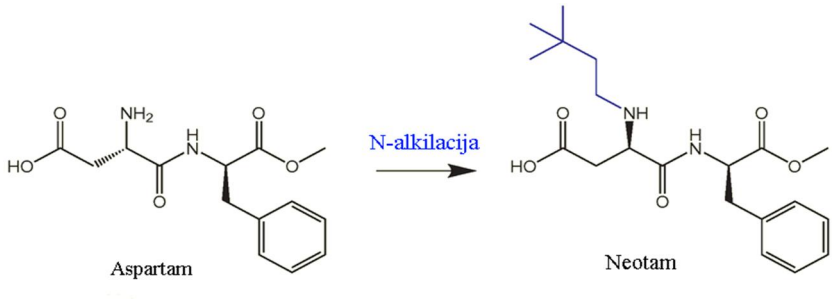
2.3.5.2. Neotam

Umjetni zaslađivač koji je kemijski sličan aspartamu je 7000–13000 puta slađi od saharoze [8]. U popisu aditiva ga nalazimo pod oznakom E961. Kemijske formule $C_{20}H_{30}N_2O_5$ i molarne mase 378,46 g/mol. Relativno je stabilan na toplinu, brzo se metabolizira i sav se izlučuje, odnosno ne akumulira se u tijelu. Glavni metabolički put je hidroliza metilnog estera pomoću esteraza koje su sveprisutne u našem tijelu, što daje ne-esterificirani neotam i metanol. Budući da su vrlo male količine neotama potrebne za zaslađivanje hrane količina metanola izvedena iz neotama je mnogo niža od količine pronađene u uobičajenoj hrani. Neotam je atraktivan za proizvođače hrane jer njegova primjena uvelike smanjuje troškove proizvodnje u usporedbi sa korištenjem saharoze ili HFCS-a. (jer manje količine pružaju jednaku slatkoću) [17].



Slika 20. Kemijska struktura neotama (L. Pavia, M. Lampman, S. Kriz, G. Engel, 5th edition, A Microscale Approach to Organic Laboratory Tehniques)

Neotam je alkilirani dipeptid nastao sintezom iz aspartama (Slika 21.).

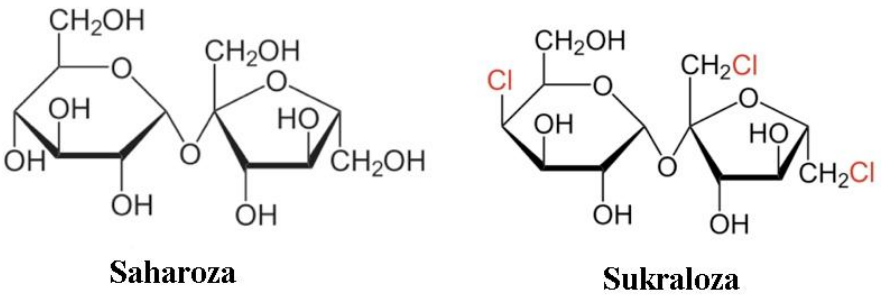


Slika 21. Sinteza neotama (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:NeotameSynthesis.png)

Kemijski gledano, sadrži 3,3-dimetilbutilnu skupinu vezanu za amino skupinu asparaginske kiseline (Slika 20.). Peptidaze, koje obično razbijaju peptidne veze između asparaginske kiseline i fenilalanina, učinkovito su blokirane prisustvom 3,3-dimetilbutila čime se smanjuje proizvodnja fenilalanina tijekom metabolizma neotama. Kao rezultat toga, neotam je siguran za korištenje i kod osoba koje pate od fenilketonurije [16].

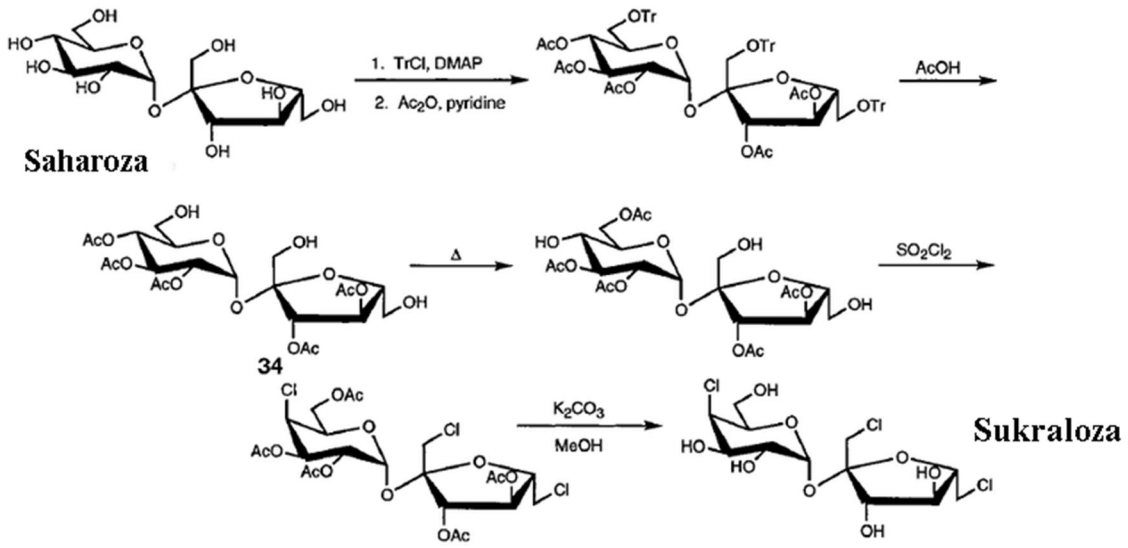
2.3.6. Sukraloza

Umjetno sladilo (triklor-galaktosaharoza) novije generacije koje dolazi pod E oznakom E955. Sukraloza je poznata pod trgovačkim nazivom *Splenda* [9]. Kemijske formule $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$ i molarne mase 397,64 g/mol (Slika 22.).



Slika 22. Usporedba kemijskih struktura saharoze i sukraloze (http://joelbergerdc.com/2014/03/)

Nakon otkrića 1976. godine postala je vrlo konkurentna s aspartamom u borbi za najprodavaniji umjetni zaslađivač [6]. Slađa je 600 puta od saharoze, što nameće prilično veliki problem razrjeđivanja do konzumiranog oblika. Sukraloza se sintetizira u laboratoriju pomoću niza reakcija u kojima se tri hidroksilne (-OH) skupine u saharozi zamjenjuju s klorovim atomima tzv. kloriranje saharoze (Slika 23.).

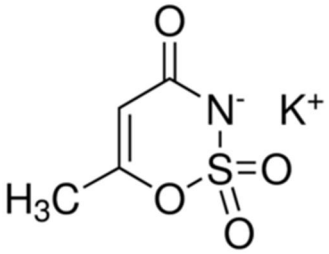


Slika 23. Sinteza sukraloze (http://cheminfo2011.wikispaces.com/Yiwei+Wang+Final)

Kako je polazni materijal saharoza, sukraloza se ponekad na tržištu označi kao šećer i to je zapravo lažno oglašavanje jer tijelo ne može prepoznati sukralozu kao ugljikohidrat. Većina unesene sukraloze se ne apsorbira odnosno ne metabolizira u tijelu [6]. Neke studije koje su dosad provedene na pokusnim životinjama pokazale su mnogobrojne nuspojave konzumacije sukraloze - smanjivanje štitnjače, povećanje jetre i bubrega, atrofija limfnih čvorova, migrene, usporen rast, smanjenje crvenih krvnih stanica, poremećena crijevna mikroflora, itd. Iako je odobrena za uporabu kao sladilo, studije o dugotrajnim učincima na zdravlje ljudi još nisu provedene [16]. Nema energetsku vrijednost jer se jednostavno izlučuje mokraćom gotovo nepromijenjena. Otporna je na visoke temperature pa se može kombinirati s drugim sladilima, ovisno o namjeni. Sukraloza je odobrena za uporabu 1998. godine kao sladilo u tableticama za kućnu uporabu, a odmah zatim i u osvježavajućim napitcima, žvakaćim gumama i smrznutim desertima (sladoled). Dosad je objavljeno 110 studija koje potvrđuju neškodljivost sukraloze kao umjetnog sladila, tj. da nema toksična i kancerogena svojstva. Danas je preporučena dnevna doza 15 mg/kg tjelesne težine, u odnosnu na prijašnjih 3,5 mg/kg.

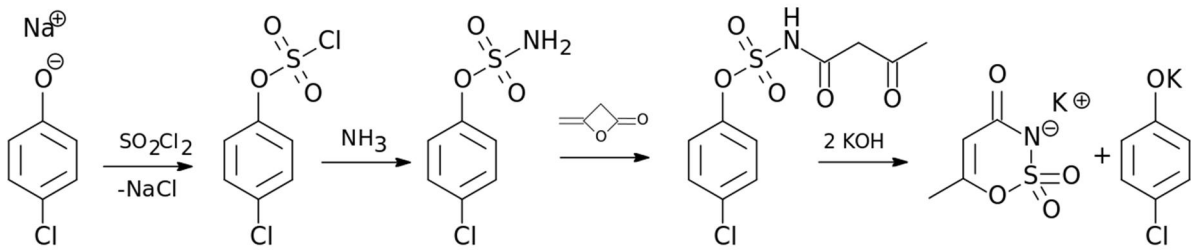
2.3.7. K-acesulfam

Umjetno sladilo novije generacije koje je 200 puta slađe od saharoze. Koristi se od 1988. godine pod nazivom *Sunette* i *Sweet One*. To je složeni kemijski spoj (dimetil oksatiazin dioksid) koji se nalazi pod oznakom E950 [7,9]. Također je otkriven sasvim slučajno kada je znanstvenik liznuo prst kako bi okrenuo stranicu knjige [8]. Nalazimo ga u bezalkoholnim pićima, proizvodima od voća, žvakaćim gumama, i dr. Stabilan je pri normalnim uvjetima skladištenja, pri visokim temperaturama, te u slabo kiselom mediju. Ima malo gorkast okus, pa se često koristi u kombinaciji s drugim zaslađivačima [18]. Kemijske formule $C_4H_4KNO_4S$ i molarne mase 201,24 g/mol.



Slika 24. Kemijska struktura K-acesulfama
(http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/04054?lang=en&region=HR)

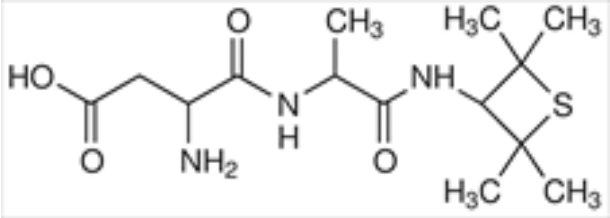
Proizvodi se kemijskom sintezom iz derivata acetooctene kiseline u kombinaciji s prirodnim mineralom kalijem, tvoreći visoko stabilni kristalni šećer (Slika 25.). Nakon konzumacije u organizmu se ne metabolizira i biva izlučen putem bubrega potpuno nepromijenjen [7]. ADI za K-acesulfam je 9 mg/kg tjelesne težine.



Slika 25. Sinteza K-acesulfama
(https://www.google.hr/search?q=acesulfame+k+synthesis&biw=1366&bih=673&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMI87CjyIi8xwIVS1saCh0bhwGI#imgrc=c8HtVlleoLFmeM%3A)

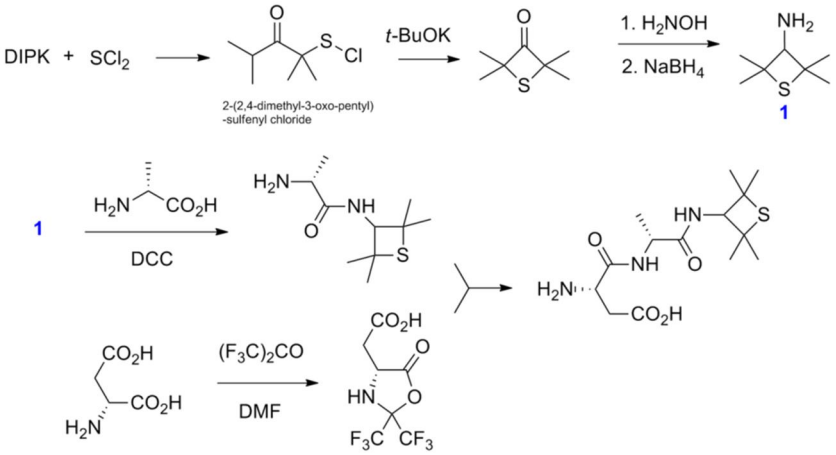
2.3.8. Alitam

Umjetno sladilo u tableticama za kućnu uporabu bez ikakvog gorkog ili metalnog naknadnog okusa, slađe je od saharoze 2000 puta. S kemijskog stajališta, riječ je o kombinaciji dviju aminokiselina (asparaginske kiseline i alanina) [9]. Kemijske formule $C_{14}H_{25}N_3O_4S$ i molarne mase 331,43 g/mol (Slika 26. i 27.). U popisu aditiva nalazimo ga pod oznakom E956.



Slika 26. Kemijska struktura alitama (https://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/login.htm?uri=https%3A%2F%2Fwww.medicinescomplete.com%2Fmc%2Fmartindale%2Fcurrent%2F3022-r.htm)

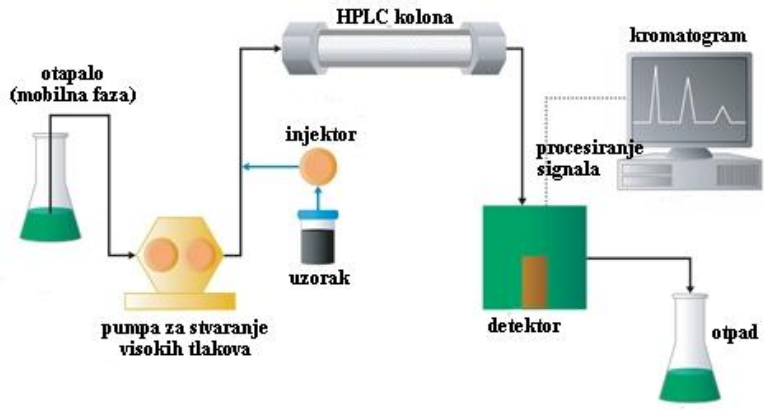
Pri uporabi, 7-22% uopće se ne apsorbira u organizmu, a ostatak od 78-92% hidrolizira se i ulazi u metabolizam kao i ostale aminokiseline. Zbog nepotpunog metabolizma ima malu energetsku vrijednost od svega 1,4 kcal/g. Zbog iznimno visoke slatkoće ova se energetska vrijednost može gotovo potpuno zanemariti. Tijekom 1995. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* zaključio je da alitam nije ni kancerogen ni toksičan [9]. Kako ne sadrži fenilalanin potpuno je siguran za osobe koje boluju od fenilketonurije. Pretpostavlja se da bi dopuštena dnevna količina ovog umjetnog sladila bila na razini 0,34 mg/kg tjelesne težine. Zasad je odobren za uporabu samo u nekim zemljama, iz kojih dosad nije bilo nikakvih informacija o negativnim posljedicama na zdravlje.



Slika 27. Sinteza alitama (https://en.wikipedia.org/wiki/Alitame#/media/File:Alitame_synthesis.png)

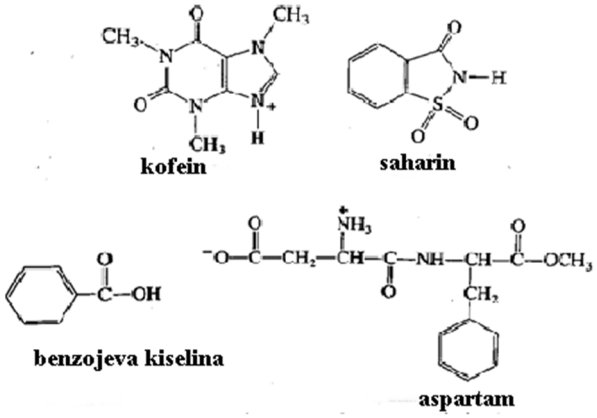
3. ANALIZA DIJETETSKIH BEZALKOHOLNIH PIĆA HPLC-om

Umjetna sladila prisutna u jednostavnom komercijalnom dijetetskom bezalkoholnom piću mogu se identificirati pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti razdvajanja (High-Performance Liquid Chromatography). Ovaj postupak koristi HPLC kao analitički alat za odvajanje i identifikaciju aditivnih tvari u uzorku (Slika 28.). Metoda koristi reverzno-faznu kolonu i smjesu otapala stalnog sastava. Detekcija se vrši mjerenjem apsorpcije UV zračenja pri 254 nm. Mobilna faza koja se koristi je smjesa 80% 1 M octene kiseline i 20% acetonitrila, puferiranoj na pH 4,2.



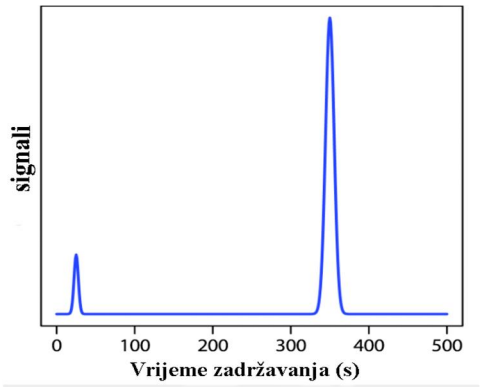
Slika 28. Princip rada HPLC uređaja (http://www.waters.com/waters/en_HR/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en_HR)

Dijetetska bezalkoholna pića sadrže mnoge kemijske aditive, uključujući i umjetna sladila. Među tim aditivima četiri su tvari detektirane u ovom eksperimentu – kofein, saharin, benzojeva kiselina i aspartam (Slika 29.).



Slika 29. Kemijske strukture tih spojeva (L. Pavia, M. Lampman, S. Kriz, G. Engel, 5th edition, A Microscale Approach to Organic Laboratory Tehniques)

Svaki taj spoj u uzorku dijetetskog bezalkoholnog pića identificira se preko retencijskog vremena, odnosno vremena zadržavanja spoja u HPLC koloni uspoređujući ga sa setom standarda (Slika 30.).

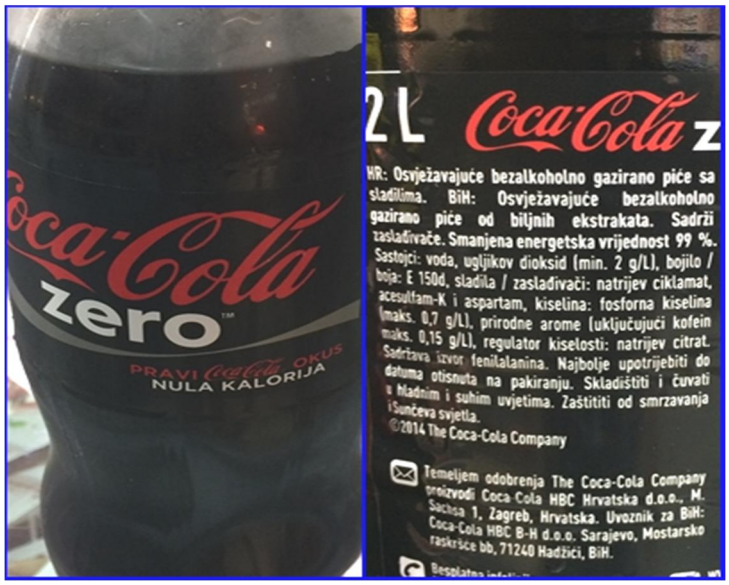


Slika 30.. Vrijeme zadržavanja u koloni i signali (peak) (chemviki.ucdavis.edu)

3.1. Postupak

Pripremi se smjesa standarda četiri komponente, koja se sastoji od 200 mg aspartama, 40 mg benzojeve kiseline, 40 mg saharina i 20 mg kofeina na 100 mL otapala. Otapalo za ove standarde je smjesa od 80% octene kiseline i 20% metanola, puferirana na pH 4,2 sa 50% NaOH.

Kao uzorak odabrano je dijetetsko bezalkoholno piće Coca-Cola Zero (Slika 31.). Prije same HPLC analize potrebno je potpuno ukloniti ugljikov dioksid koji uzrokuje mjehuriće u bezalkoholnom piću. Mjehurići će utjecati na vrijeme zadržavanja spoja u koloni, a moguće je i oštećenje skupe HPLC kolone. Većina tog plina može se ukloniti na način da ta posuda sa bezalkoholnim pićem ostane otvorena preko noći. Za uklanjanje posljednjih tragova otopljenog plina, postavimo tikvicu za filtriranje sa Büchnerovim lijevkom i spojimo je na vakuum koristeći filter papir debljine 4 μm. Prije početka HPLC analize, uzorak je potrebno još jednom profiltrirati, ali ovaj put kroz filter papir debljine 0,2 μm. Preporučeni volumen uzorka za analizu je 10 μL.



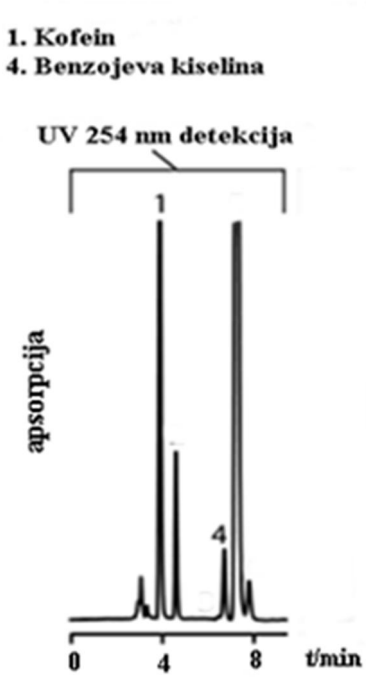
Slika 31. Uzorak za HPLC analizu

3.2. Rezultati

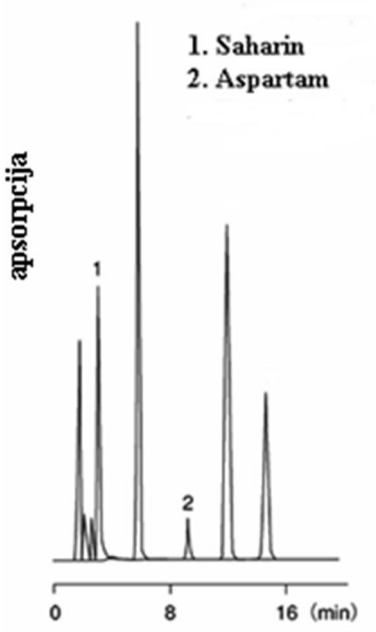
U dobivenom grafu može se uočiti pik koji odgovara aspartamu (Slika 33.). Signal je malen zato što aspartam apsorbira UV zračenje na valnoj duljini od 220 nm, dok je detektor podešen tako da mjeri apsorpciju svijetlosti pri 254 nm. Uspoređujući rezultate HPLC analize sličnog dijetetskog bezalkoholnog pića pri istoj valnoj duljini, gdje se nalaze i ova četiri spoja (Slika 32. i 33.), očekivani redoslijed ispiranja s kolone je saharin (prvi), kofein, benzojeva kiselina i aspartam (Tablica 4.). Još jedna zanimljiva stvar je da, iako se signal kofeina čini poprilično velik u ovoj analizi, on je ipak mali u usporedbi sa signalom kojeg ćemo dobiti ako ubrizgamo kavu u HPLC. Da bi signal kofeina iz kave odgovarao signalu kofeina iz grafa (Slika 31.), trebalo bi razrijediti kavu barem 10 puta [6]. Čak i kave *bez kofeina* obično imaju više kofeina nego li gazirana bezalkoholna pića (bezkofeinska kava mora biti samo 95-96 % bez kofeina).

Tablica 4. Vrijeme zadržavanja ispitanih spojeva

Spoj	Retencijsko vrijeme
Saharin	**2-2,935**
Kofein	**4-5,245**
Benzojeva kiselina	**6,5-6,835**
Aspartam	**8,5-9,235**



Slika 32. Rezultati analize 1 (http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/food-beverage/hplc-beverage-additives.html)



Slika 33. Rezultati analize 2
(http://www.shimadzu.com/an/industry/foodbeverages/e8o1ci00000003t3.htm)

4. SAŽETAK

Činjenica je da svi jedemo previše šećera i da time ugrožavamo zdravlje. Kako bi smanjili kalorijski unos, šećere zamjenjujemo umjetnim sladilima koja služe kao vrlo solidna niskokalorijska zamjena. Umjetna sladila se proizvode u svrhu prevencije epidemije pretilosti, kao pomoć u borbi protiv dijabetesa i zubnog karijesa, a i mnogo su isplativija od šećera. Većina tih zaslađivača su nus produkti kemijskih pokusa koji su bili povezani s nečim sasvim drugim, tako da sama činjenica kako su to industrijske tvorevine izaziva sumnju nekih ljudi. Osobe koje sumnjaju u štetnost umjetnih sladila, uvijek imaju alternativu – prirodna sladila. Sladila mogu biti hranjiva i nehranjiva, te prirodna i umjetna. Nema smisla potpuno izbaciti ugljikohidrate iz prehrane, već treba smanjiti njihov bespotrebni unos, jer ugljikohidrati su vrlo važne biološke makromolekule.

Zbog sinergističkog efekta često smjese slatkih spojeva pokazuju viši intenzitet slatkog okusa od pojedine komponente. Zato se često kombiniraju dva sladila u jedan proizvod (npr. saharin i ciklamat, saharin i sorbitol) kako bi se pojačao slatki okus. Unatoč mnogobrojnim umjetnim sladilima, saharoza i dalje dominira kao najčešće korišteni zaslađivač. Umjetna sladila se upotrebljavaju u većini prerađenih proizvoda kao zamjena za šećer, i na deklaracijama tih proizvoda se sigurno može pronaći barem jedno umjetno sladilo od navedenih: glukozno-fruktozni sirup, sorbitol, ksilitol, saharin, natrijev ciklamat, aspartam, neotam, sukraloza, K-acesulfam i alitam. Važno je napomenuti kako većina tih sladila ima i trgovačke nazive, pa ih proizvođači često upakiraju pod nekim drugim imenom kao što su Nutrasweet ili Equal za aspartam, Splenda za sukralozu, Sunette ili Sweet One za K-acesulfam, Sladicin i Natreen za kombinaciju ciklamata i saharina itd. Svaki od tih umjetnih sladila ima karakterističnu kemijsku strukturu, a većina ih je otkrivena sasvim slučajno. Proizvode smatramo sigurnima na temelju ADI mjere. Iako se rizik od konzumacije umjetnih sladila u dopuštenim količinama smatra zanemarivim, uvijek je dobrodošao savjet: umjerenost je ključ.

HPLC analizom dijetetskog bezalkoholnog pića utvrđeno je postojanje aditivnih tvari, od kojih se saharin i aspartam ističu kao umjetna sladila. Uspoređujući rezultate HPLC analize sličnog proizvoda, očekivani redoslijed ispiranja s kolone je saharin (prvi), kofein, benzojeva kiselina i aspartam.

5. LITERATURA

1. http://www.dijabetes.hr/zanimljivosti/kako-umjetna-sladila-utjecu-na-zdravlje-4320/, 06.08.2015
2. http://www.uppt.hr/savjeti-mainmenu-44/prehrana-mainmenu-60/1774-umjetna-sladila-vs-prirodna-sladila, 06.08.2015
3. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002
4. Jurčić Zvonko (ur.), Živković, Ebling. Zagreb 2002. Ugljikohidrati u prehrani i dijetetici // 1. Primjena, uloga i vrsta zamjena za šećere u prehrani, str. 95-105.
5. http://www.zdravosfera.com/umjetni-zasladjivaci/, 06.08.2015
6. L. Pavia, M. Lampman, S. Kriz, G. Engel. 5th edition. A Microscale Approach to Organic Laboratory Tehniques, str. 445-452.
7. http://www.index.hr/fit/clanak/umjetni-zasladjivaci-i-sve-sto-o-njima-trebate-znati/724876.aspx, 13.08.2015
8. http://www.mojdoktor.hr/article.php?id=462&naziv=umjetni-zasladjivaci, 06.08.2015
9. http://www.coolinarika.com/clanak/umjetna-sladila-zamjena-za-secer/, 18.08.2015
10. http://istineilaziohrani.blogspot.com/2015/02/hfcs-jeftina-zamjena-za-secer-jos-gora.html, http://www.nutricionizam.hr/clanci/glukozno-fruktozni-sirup, 14.08.2015
11. http://www.zdravobudi.hr/8731/zamjene-za-secer, 06.08.2015
12. http://www.zzjzpgz.hr/nzl/9/sladilo.htm, 13.08.2015
13. http://www.zdravlje-prehrana.com/umjetna-sladila/, 06.08.2015
14. http://www.krenizdravo.rtl.hr/prehrana/vodic-kroz-umjetna-sladila, 13.08.2015
15. http://www.lejlakazinickreho.com/karcinogena-umjetna-sladila/, 05.08.2015
16. http://www.ordinacija.hr/zdravi-tanjur/jedi-zdravo/upoznajte-umjetna-sladila/, 05.08.2015
17. https://en.wikipedia.org/wiki/Neotame, http://matrixworldhr.com/2013/03/25/neotam-novi-aspartam/, 19.08.2015
18. http://www.nzjz-split.hr/userfiles/Umjetna%20sladila.pdf, 05.08.2015