

## **OCENA ZAWARTOŚCI SUBSTANCJI INTENSYWNIE SŁODZĄCYCH W SŁODZIKACH W TABLETKACH**

**Anna Czajkowska-Mysiek**

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Zakład Jakości Żywności

al. M. J. Piłsudskiego 84, 92-202 Łódź

anna.czajkowska@ibprs.pl

### **Streszczenie**

Oceniono zawartość substancji intensywnie słodzących – aspartamu, sacharynianu sodu i kwasu cyklaminyowego – w słodzikach stołowych w tabletkach. W badaniach wykorzystano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD). Badaniami objęto 13 rynkowych produktów, tabletek zawierających aspartam lub mieszaninę cyklaminyanów i sacharynianów. W analizowanych słodzikach stołowych oznaczono średnio 16,4 mg/tab aspartamu, 3,7 mg/tab sacharynianu sodu i 35,3 mg/tab kwasu cyklaminyowego.

Oszacowane maksymalne poziomy % ADI zarówno w tabletkach zawierających aspartam (< 5,9% dla osoby dorosłej, < 13,7% dla dziecka dla 10 tabletek), jak i w tabletkach z sacharynianem sodu (< 10,7% dla osoby dorosłej, < 24,9% dla dziecka dla 10 tabletek), nie wskazują na możliwość przekroczenia dopuszczalnych wartości ADI. Niebezpieczeństwo dla zdrowia konsumenta związane jest z pobraniem ADI dla cyklaminyanów przy spożyciu 14 tabletek (493,7 mg) słodzika stołowego dziennie przez osobę dorosłą oraz 6 tabletek (211,6 mg) przez dziecko.

**Słowa kluczowe:** kwas cyklaminyowy, sacharynian sodu, aspartam, słdzik stołowy, RP-HPLC-DAD

## **EVALUATION OF INTENSE SWEETENERS CONTENTS IN TABLE-TOP SWEETENERS**

### **Summary**

The aim of this study was the determination of intense sweeteners – aspartame, sodium saccharin and cyclamic acid contents in table-top sweeteners. In the study the high performance liquid chromatography (HPLC) with diode array detector (DAD) technique was

used. The study included 13 table sweetener products, sweetened with aspartame or cyclamates with saccharin. In analyzed table-tops, estimated medium contents of 16,4 mg/tab for aspartame, 3,7 mg/tab for sodium saccharin and 35,3 mg/tab for cyclamic acid were obtained. Evaluated maximum levels of % ADIs assessed for sweeteners containing aspartame (< 5,9 % for adult, < 13,7 % for children per 10 tablets), as well as for tablets with sodium saccharin (< 10,7 % for adult, < 24,9 % for children per 10 tablets), indicate that their average intakes are below the relevant levels. The risk to the health of the average consumer is concerned with intake of ADI for cyclamates, for adult with intake of 14 tablets (493,7 mg) and for children with intake of 6 tablets (211,6 mg) of table-top sweetener daily.

**Key words:** cyclamic acid, sodium saccharin, aspartame, table-top sweeteners, RP-HPLC-DAD

## WSTĘP

Bezpieczeństwo i efekty zdrowotne dostępnej na rynku żywności są bardzo ważnym zagadnieniem dla dzisiejszych konsumentów. Spożycie produktów spożywczych nie może wiązać się z występowaniem jakiegokolwiek ryzyka negatywnego wpływu na zdrowie człowieka, zarówno bezpośredniego, jak i długofalowego, jednakże konsumenci często obawiają się o bezpieczeństwo związane ze stosowaniem dodatków do żywności, zwłaszcza tych otrzymywanych syntetycznie.

Spośród dodatków do żywności substancje intensywnie słodzące stanowią grupę związków najczęściej dodawanych do produktów spożywczych, w największych ilościach do napojów bezalkoholowych i słodzików stołowych oraz m.in. do gum do żucia, lodów, dżemów, majonezów, deserów i napojów mlecznych [Świąder i in. 2011]. Obserwowany w ostatnich latach rozwój tych grup produktów wymusza stosowanie innych, zarówno naturalnych środków intensywnie słodzących (taumatyna, glicyryzyna, stewiozydy), jak i syntetycznych substancji słodzących (sacharyniany, aspartam, acesulfam K, cyklaminiany, neohesperydyna, sukraloza, alitam, neotam) [Waszkiewicz-Robak i in. 2007].

Do najczęściej stosowanych substancji słodzących, będących zamiennikami cukru, są zaliczane syntetyczne substancje intensywnie słodzące, gdyż zapewniają produktom intensywny słodki smak bez dostarczania dodatkowych kalorii lub dostarczając małą ich ilość (aspartam, neohesperydyna DC). Do syntetycznych substancji intensywnie słodzących należą: acesulfam potasu, aspartam, cyklaminiany, sacharyniany, neohesperydyna DC i sukraloza, a ich maksymalną zawartość w żywności szacuje się i aktualizuje na podstawie dostępnych danych toksykologicznych (tabela 1) [Mortensen 2006].

**Tabela 1.** Wykaz syntetycznych substancji intensywnie słodzących oraz warunków ich stosowania w żywności  
*Artificial sweeteners and their conditions of use in food*

Substancja intensywnie słodząca	Symbol E	Słodycz w odniesieniu do sacharozy (= 1)	ADI <sup>a</sup> (mg/kg masy ciała/dzień)	Rok	
				zatwierdzenia <sup>b</sup>	ostatniej ewaluacji <sup>b</sup>
acesulfam K	E950	200	0-9	1984	2000
aspartam	E951	180-200	0-40	1984	2013
kwas cyklaminowy i jego sole Na i Ca	E952	30	0-7	1984	2000
neohesperydyna DC	E959	1900	0-5	1988	1988
sacharyna i jej sole Na, K i Ca	E954	300-500	0-5	1977	1995
sukraloza	E955	600	0-15	2000	2000

<sup>a</sup> ADI (*Acceptable Daily Intake*), dopuszczalne dzienne spożycie

<sup>b</sup> przez SFC (*Scientific Committee on Food*), Komitet Naukowy ds. Żywności przy UE obecnie EFSA (*European Food Safety Authority*), Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności

Na podstawie poziomu niewywołującego dających się zaobserwować szkodliwych skutków NOAEL (ang. *No Observable Adverse Effect Level*) wyznaczono dopuszczalne dzienne spożycie ADI (ang. *Acceptable Daily Intake*), definiowane jako maksymalna ilość substancji intensywnie słodzącej, która zgodnie z aktualnym stanem wiedzy może być przez człowieka pobierana codziennie z żywnością przez całe życie, prawdopodobnie bez negatywnych skutków dla zdrowia. Jednakże nawet przekroczenie w dużym stopniu ADI dla substancji intensywnie słodzącej nie musi spowodować żadnych negatywnych efektów, ponieważ przy określaniu ADI zapewniono pewien margines bezpieczeństwa. Dane literaturowe uzyskane dla krajów UE do 1997 roku określają średnie spożycie substancji intensywnie słodzących na poziomie znacznie poniżej określonych wartości ADI [Mortensen 2006]. Jednakże ze względu na fakt stosowania w coraz większym zakresie substancji słodzących oraz ich potencjalną toksyczność, istnieje konieczność limitowania i monitorowania zawartości tych substancji w artykułach spożywczych [Sękalska 2007].

Słodziki stołowe w tabletkach przeznaczone są do bezpośredniego użytku przez konsumentów do słodzenia różnego rodzaju napojów, m.in. kawy lub herbaty. Na etykietach tych produktów umieszczona jest informacja o nazwie użytej substancji słodzącej, ponadto słodziki zawierające aspartam muszą zawierać dodatkowo informację, że produkt jest źródłem fenyloalaniny, niebezpiecznej dla osób, które nie metabolizują tego aminokwasu [WE

1333/2008]. W tabletkach słodzików stołowych najczęściej stosowanymi substancjami intensywnie słodzącymi są aspartam oraz mieszanina cyklamianów i sacharynianów.

Aspartam składa się z dwóch aminokwasów: L-feniloalaniny oraz kwasu L-asparaginowego zestryfikowanych alkoholem metylowym. Jest związkiem słabo rozpuszczalnym w wodzie, niestabilnym w wysokich temperaturach oraz w roztworach wodnych, w których hydrolizuje do diketopiperazyny [Zygler i in. 2009]. Największe niebezpieczeństwo związane ze spożyciem aspartamu wiąże się właśnie z produktami jego hydrolizy i degradacji ( $\beta$ -aspartam), które są wchłaniane do krwi. Aspartam jest metabolizowany w organizmie do ok. 50% feniloalaniny, 40% kwasu asparaginowego oraz 10% alkoholu metylowego [Roberts 1988]. Nie stwierdzono genotoksycznego oraz kancerogennego wpływu powstającego z rozkładu aspartamu alkoholu metylowego. ADI dla aspartamu (40 mg/kg masy ciała/dzień) zostało ustalone po raz pierwszy w 1984 roku i pomimo wielu prawie corocznych ewaluacji pozostało do dnia dzisiejszego niezmiennione [EFSA 2013], a wszelkie podejrzenia odnośnie jego kancerogenności ostatecznie odrzucone [EFSA 2006].

Cyklaminiany (sole sodu i wapnia kwasu cykloheksylosulfonowego) to grupa związków dobrze rozpuszczalnych w wodzie, stabilnych w szerokim zakresie pH (2-10) oraz niemetalizowanych w organizmie. Najczęściej do żywności dodawana jest sól sodowa tego związku, sole wapniowe mogą być stosowane w produktach niskosodowych lub wolnych od sodu. Cyklaminiany charakteryzują się najniższą słodkością spośród wszystkich substancji intensywnie słodzących, ale wykazują synergizm z sacharyną, przez co maskują jej niekorzystny metaliczny posmak [Miśkiewicz i in. 2012]. Najczęściej stosuje się je w stosunku wagowym 10:1. Pod wpływem mikroflory bakteryjnej cyklaminiany mogą ulec przemianie w cykloheksyloaminy uważane za związki rakotwórcze [Newberne, Conner 1986]. W związku z licznymi kontrowersjami związanymi z metabolitami cyklaminianów, ustalono tymczasową wartość ADI dla cyklaminianów (11 mg/kg masy ciała/dzień), którą ostatecznie w 2000 roku zmniejszono do wartości 7 mg/kg masy ciała/dzień [SCF 2000].

Sacharyniany (wolny imid, sole sodowe, wapniowe i potasowe) są związkami stabilnymi w roztworach wodnych. W związku z charakterystycznym dla tych związków metalicznym posmakiem, stosowane są często w połączeniu z innymi substancjami intensywnie słodzącymi. W 1977 roku ustalono tymczasowe ADI dla sacharynianu (2,5 mg/kg masy ciała/dzień), które w 1995 roku ostatecznie wyznaczono na poziomie 5 mg/kg masy ciała/dzień dla sacharynianu sodu (3,8 mg/kg masy ciała/dzień sacharyny jako wolny imid). Sacharynian podejrzewany był o właściwości kancerogenne, jednakże ostatecznie nie

potwierdzono związku jego spożycia z występowaniem nowotworu pęcherza u ludzi [SCF 1995].

Celem niniejszej pracy była ocena zawartości substancji intensywnie słodzących w aspekcie ich dopuszczalnego dziennego spożycia (ADI) w dostępnych na rynku detalicznym słodzikach stołowych w formie tabletek zawierających w swoim składzie aspartam, kwas cyklaminyowy i sacharynian sodu.

### **MATERIAŁ I METODY BADAŃ**

Badaniami objęto 13 dostępnych na rynku detalicznym słodzików stołowych, dystrybuowanych przez różnych producentów oraz pod marką własną sieci handlowych. Badane produkty podzielono na dwie grupy: słodziki na bazie aspartamu (7 produktów) oraz słodziki na bazie kwasu cyklaminyowego i sacharynianu sodu (6 produktów).

Tabletki słodzików mikronizowano i odważano z dokładnością do 0,0001 g (0,1 g słodziki z aspartamem oraz 1,0 g pozostałe) w dwóch równoległych powtórzeniach. Próbki rozpuszczano w wodzie ultraczystej (Milli-Q), rozcieńczano do odpowiedniego poziomu stężeń i ekstrahowano ultradźwiękami przez 15 min.

Zawartość aspartamu i sacharynianu sodu oznaczono za pomocą techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (RP-HPLC-DAD) w oparciu o PN-EN 12856:2002 (aspartam: powtarzalność  $\leq 4\%$ , odzysk 86-103%, sacharynian sodu: powtarzalność  $\leq 2\%$ , odzysk 98-109%). Badania zawartości cyklaminyanu sodu w przeliczeniu na kwas cykloheksylosulfonowy wykonano za pomocą techniki RP-HPLC-DAD, według PN-EN 12857:2002 z powtarzalnością wynoszącą  $\leq 6\%$  i dokładnością 80-115%.

Do analiz wykorzystano chromatograf cieczowy Performance UFLC firmy Shimadzu w układzie dwukanałowym, wyposażony w autosampler i detektor SPD-M20A, pracujący przy długościach fali 220 nm (sacharynian sodu, aspartam) i 314 nm (kwas cyklaminyowy). Do rozdzielania zastosowano kolumnę monolityczną z fazą odwróconą Onyx Monolithic C18 (Phenomenex) o wymiarach 100 mm  $\times$  4,6 mm, poprzedzoną prekolumną o tym samym wypełnieniu i wymiarach 10 mm  $\times$  4,6 mm.

Fazę ruchomą do oznaczenia zawartości sacharynianu sodu i aspartamu stanowiła mieszanina 0,02 M bufor fosforanowy pH 4,3/acetonitryl (ACN) (gradient 0-2,5 min 5/15% ACN, 2,5-10 min 15% ACN, 10,01 min 5% ACN) i przepływie 1,1 ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>.

Natomiast rozdział kwasu cyklaminowego prowadzono w układzie metanol/woda w stosunku 80:20 (v/v) i przepływie  $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Przed rozpoczęciem analiz cyklaminianów kolumnę kondycjonowano przez 30 min 1% roztworem EDTA.

Analizę zawartości aspartamu i sacharynianu sodu przeprowadzono po uprzednim przefiltrowaniu roztworów próbek przez filtr strzykawkowy Nylon  $25 \text{ mm} \times 0,2 \text{ } \mu\text{m}$  w dwóch równoległych powtórzeniach.

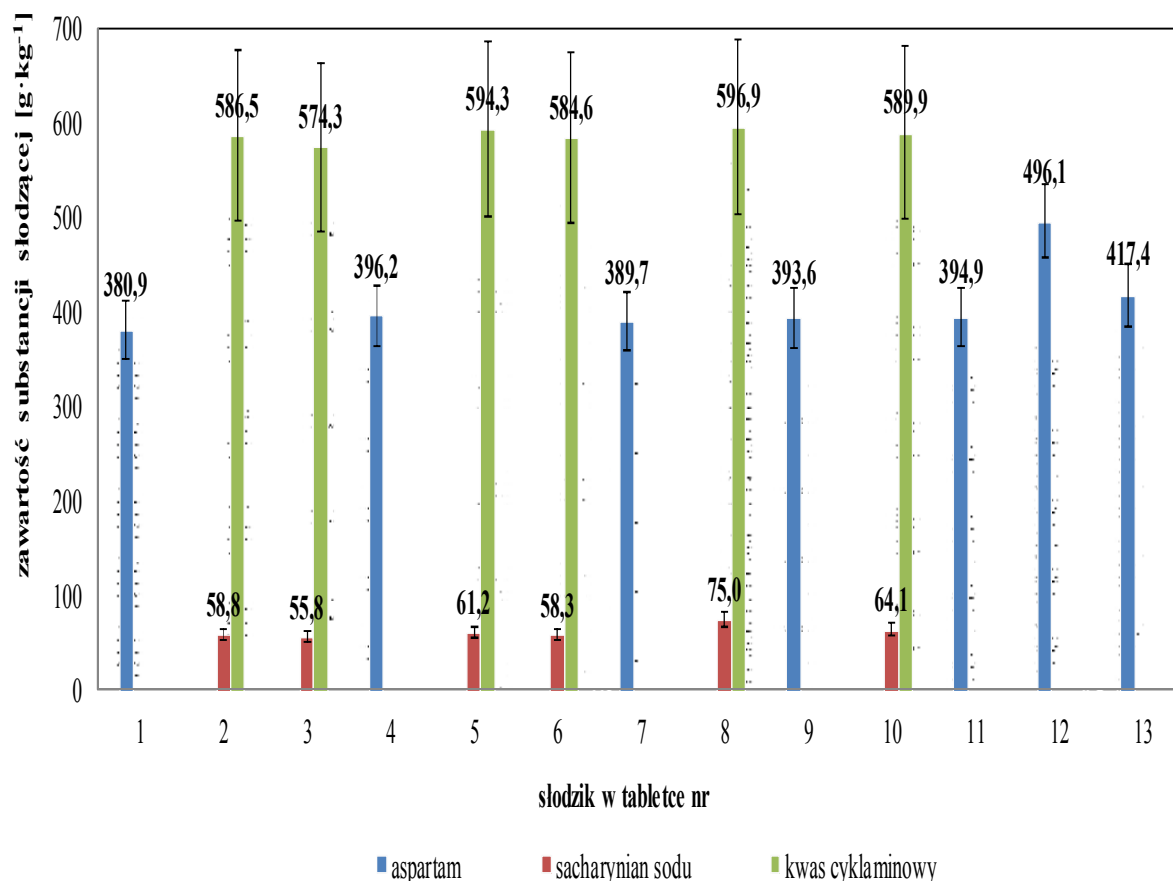
W celu uzyskania pochodnych cyklaminianu (N,N-dichlorocykloheksyloamina) pobierano 20 ml roztworów próbek lub roztworów wzorca do rozdzielacza, dodawano 1 ml 50% (m/m) kwasu siarkowego, 10 ml n-heptanu i 2,5 ml roztworu podchlorynu sodu (1,7% aktywnego chloru) i wytrząsano na wytrząsarce przez 2 min. Po rozdzieleniu faz, warstwę organiczną przemywano 25 ml 5% roztworu węglanu sodu i wytrząsano przez kolejną 1 min. Zebraną fazę osuszano siarczanem sodu i umieszczano w viali autosamplera. Każdy roztwór analizowano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Identyfikację związków w słodzikach przeprowadzono poprzez porównanie czasów retencji sygnałów pochodzących od tych związków w próbkach, z sygnałem otrzymanym od roztworów substancji wzorcowych. Do oceny zależności pomiędzy powierzchnią otrzymanych pików badanych związków a ich zawartością w próbkach wykorzystano analizę regresji prostej.

Otrzymane wyniki oszacowano statystycznie przy użyciu programu EXCEL 2010 oraz Statistica 10.

## **WYNIKI I DYSKUSJA**

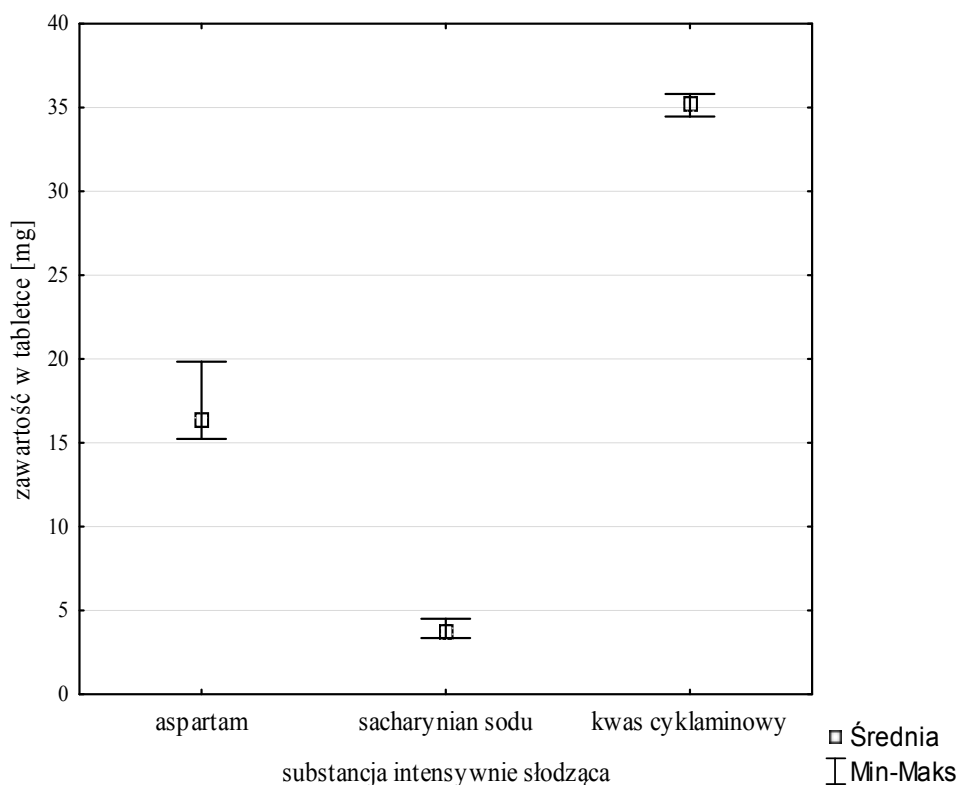
Uzyskane wyniki badań słodzików stołowych w tabletkach przedstawiono na rysunku 1. Grupa słodzików stołowych cyklaminiowo-sacharynowych zawierała mieszaninę tych substancji słodzących w oczekiwanym stosunku 1:10.



Wyniki podano z niepewnością rozszerzoną przy poziomie ufności 95% dla współczynnika rozszerzenia  $k=2$ .

**Rysunek 1.** Zawartość substancji intensywnie słodzących w słodzikach w tabletkach  
*Intense sweeteners contents in table-top sweeteners*

Na podstawie wyników analiz wyliczono zawartości poszczególnych substancji w 1 tabletkę gotowego produktu. Zawartość kwasu cyklaminowego w jednej tabletkę słodzika (0,06 g) wynosiła od 34,5 do 35,8 mg, sacharynianu sodu od 3,3 do 4,5 mg, natomiast w jednej tabletkę (0,04 g) słodzika z aspartamem znajdowało się od 15,2 do 19,8 mg tego związku (rysunek 2).



**Rysunek 2.** Porównanie minimalnych, maksymalnych i średnich zawartości substancji intensywnie słodzących otrzymanych dla słodzików stołowych w tabletkach  
*Comparison of minimum, maximum and average contents of intense sweeteners obtained for table-top sweeteners*

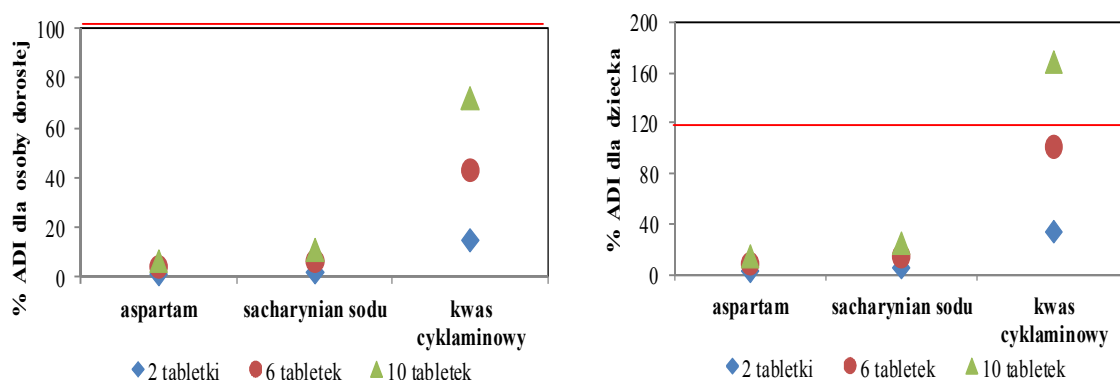
W celu interpretacji uzyskanych wyników badań obliczono % ADI badanych substancji słodzących spożywanych wraz z 1 tabletką słodzika stołowego dla osoby dorosłej i dziecka, przyjmując założenie, że osoba dorosła waży 70 kg, a dziecko 30 kg (tabela 2).

**Tabela 2.** Dzielne pobranie substancji intensywnie słodzących w 1 tabletkę słodzika stołowego przez osobę dorosłą i dziecko  
*The daily intake of intense sweeteners from 1 table-top sweetener by an adult and a child*

Substancja intensywnie słodząca	ADI		Średnia zawartość substancji słodzącej [mg/1 tab]	% ADI	
	mg/70 kg	mg/30 kg		Osoba dorosła	Dziecko
aspartam	2800	1200	16,4	0,6	1,4
sacharynian sodu	350	150	3,7	1,1	2,5
kwas cyklaminyowy	490	210	35,3	7,2	16,8



Z przedstawionych obliczeń wynika, że konsument, spożywając 1 tabletkę słodzika dziennie, nie przekracza ustalonych dopuszczalnych dziennych poziomów spożycia substancji intensywnie słodzących. Słodziki stołowe przeznaczone są do słodzenia napojów typu herbata, kawa, więc do uzyskania odpowiedniej słodkości przygotowanego napoju odpowiadającej 2 łyżeczkom cukru (ok. 8 g) potrzeba średnio 2 tabletek słodzika stołowego. W przypadku spożycia 5 napojów słodzonych słodzikiem stołowym dziennie do ich przygotowania zostanie wykorzystane przeciętnie ok. 10 tabletek, w zależności od indywidualnych preferencji smakowych konsumenta. Na podstawie spożycia słodzików w tabletkach w ilości od 2 do 10 tabletek dziennie oszacowano przeciętny średni % ADI uzyskany dla poszczególnych substancji intensywnie słodzących zawartych w badanych produktach (rysunek 3).



**Rysunek 3.** Wpływ ilości spożytych tabletek słodzika na uzyskany % ADI dla substancji intensywnie słodzących  
*The influence of table-top sweeteners consumption on obtained % ADI for intense sweeteners*

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że istnieje potencjalne niebezpieczeństwo wystąpienia pobrania ekwiwalentnego ADI przy spożyciu 14 tabletek zawierających kwas cyklaminy dla osoby dorosłej oraz dziecka po spożyciu już 6 tabletek słodzika dziennie. O ile w przypadku dzieci stosowanie słodzików stołowych można ograniczyć do słodzenia herbaty, o tyle w tej grupie konsumentów znacznie wzrasta spożycie napojów bezalkoholowych zawierających kwas cyklaminy, co znacznie podwyższa prawdopodobieństwo wystąpienia znacznego przekroczenia dziennej dawki ADI dla cyklaminy. Poziom ADI dla cyklaminy może być podwyższony o dodatkowe 62% (330 mg), w sytuacji gdy dziecko wypije dodatkowo 1 l napoju bezalkoholowego zawierającego sacharynian sodu [Czajkowska-Mysłęć i in. 2013]. Ponieważ większość ludzi nie metabolizuje cyklaminy, są one częściowo usuwane z organizmu wraz z moczem.

Niezaabsorbowany cyklaminian może być metabolizowany w różnym stopniu w zależności od cech osobniczych, w < 0,1-8% lub nawet 60%, do toksycznej cykloheksyloaminy. Stwierdzono, że cykloheksyloamina powoduje zanik jąder u szczurów oraz małą [Bopp i in. 1986; Renwick i in. 2004; Takayama in. 2000]. Stosowanie cyklaminianów w żywności jest nadal zabronione w USA i Japonii. Oszacowane średnie ADI dla cyklaminianów wynosi 10% (dla ADI 11 mg/kg m. c.) [Toledo, Ioshi 1995], a spożycie powyżej poziomu ADI jest mniejsze niż 0,5% [Hulshof i in. 1995]. Uzyskane wyniki wskazują na niebezpieczeństwo związane ze spożyciem ilości przewyższającej wartość ADI dla cyklaminianów w słodzikach stołowych, zwłaszcza dla stosujących je dzieci. Nawet biorąc pod uwagę fakt, że ADI wyznaczane jest z ok. 100-krotnym marginesem bezpieczeństwa, przy założeniu powstawania 18% cykloheksyloaminy, tak duże spożycie cyklaminianów w żywności może stwarzać ryzyko negatywnego wpływu na zdrowie dzieci, a także osób dorosłych spożywających znaczne ilości słodzików w tabletkach.

Oszacowane maksymalne poziomy % ADI uzyskane zarówno dla tabletek zawierających aspartam (< 5,9% dla osoby dorosłej, < 13,7% dla dziecka dla 10 tabletek), jak i dla tabletek z sacharynianem sodu (< 10,7% dla osoby dorosłej, < 24,9% dla dziecka dla 10 tabletek), nawet przy założeniu spożycia kilkudziesięciu tabletek dziennie, nie wskazują na możliwość przekroczenia ich dopuszczalnych poziomów, a tym samym ich spożycie nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumentów. Oszacowane w USA pobranie aspartamu wynosi 0,1% ADI [Butchko i in. 2002], nawet przy założeniu znaczącego spożycia aspartamu wartość ta nie przekracza 30% ADI [Magnuson i in. 2007].

W ostatnich 10 latach nie odnotowano znaczącego wzrostu spożycia substancji intensywnie słodzących z żywnością powyżej wyznaczonych wartości ADI, za wyjątkiem cyklaminianów u dzieci, zwłaszcza diabetyków [Renwick 2006], co potwierdza konieczność monitorowania poziomu ich występowania, szczególnie z uwzględnieniem grup wysokiego ryzyka.

## **WNIOSKI**

Oceniając zawartość aspartamu, sacharynianu sodu i kwasu cyklaminowego w 13 słodzikach stołowych w tabletkach, stwierdzono, że:

1. Konsument, spożywając 1 tabletkę słodzika dziennie, nie przekracza ustalonych dopuszczalnych dziennych poziomów spożycia (ADI) substancji intensywnie słodzących.

2. Występuje potencjalne niebezpieczeństwo związane z pobraniem ekwiwalentnego ADI dla cyklamianów dla osoby dorosłej przy spożyciu 14 tabletek (493,7 mg) oraz dla dziecka przy spożyciu 6 tabletek (211,6 mg) słodzika stołowego dziennie.
3. Uzyskane zawartości aspartamu i sacharynianu sodu w tabletkach badanych słodzików nie wskazują na możliwość przekroczenia ich dopuszczalnych poziomów ADI, a tym samym ich spożycie nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumentów.

### **PIŚMIENNICTWO**

1. Bopp A. B, Sonders R. C., Kesterson J. W. (1986). Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamine. *Crit. Rev. Toxicol.*, 16, 213-306
2. Butchko H. H., Stargel W. W., Comer C. P., Mayhew D. A., Benninger C., Blackburn G. L., de Sonneville L. M., Geha R. S., Hertelendy Z., Koestner A., Leon A. S., Liepa G. U., McMartin K. E., Mendenhall C. L., Munro I. C., Novotny E. J., Renwick A. G., Schiffman, S. S., Schomer D. L., Shaywitz B. A., Spiers P. A., Tephly T. R., Thomas J. A., Trefz F. K. (2002). Intake of aspartame versus the Acceptable Daily Intake. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 35, 13-16
3. Czajkowska-Myslek A., Gajewska M., Bartodziejska B. (2013). Ocena zawartości cyklamianu sodu w napojach bezalkoholowych., *Post. Nauki Technol. Przem. Rol.-Spoż.*, 68 (2), 38-45
4. EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on the request from the Commission related to a new long-term carcinogenicity study on aspartame. (2006). *EFSA J.*, 356, 1-44
5. EFSA. Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive. (2013). *EFSA J.*, 11 (12), 349
6. Hulshof K. F. A. M., Kistemaker C., Bouman, M., Löwik, M. R. H. (1995). Use of Various Types of Sweeteners in Different Population Groups: 1992 Dutch National Food Consumption Survey (TNO Report V-95.301), Zeist, TNO Nutrition and Food Research Institute
7. Magnuson B. A., Burdock G. A., Doull J., Kroes R. M., Marsh G. M., Pariza M. W., Spencer P. S., Waddell W. J., Walker R., Williams G. M. (2007). Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit. Rev. Toxicol.*, 37, 629-727

8. Miśkiewicz K., Rosicka-Kaczmarek J., Nebesny E. (2012). Substancje słodzące w produktach spożywczych. *Prz. Piek. Cukr.*, 2, 58-59
9. Mortensen A. (2006). Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. *Scand. J. Food. Nutr.*, 50 (3), 104-116
10. Newberne P. M., Conner M. W. (1986). Food additives and contaminants. An update. *Cancer*, 58, 1851-1862
11. PN-EN 12857:2002 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości cyklamianu. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej
12. PN-EN 12856:2002 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości acesulfamu-K, aspartamu i sacharyny. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej
13. Renwick A. G. (2006). The intake of intense sweeteners – an update review. *Food Addit. Contam.*, 23, 327-338
14. Renwick A. G., Thompson J. P., O'Shaughnessy M., Walter E. J. (2004). The metabolism of cyclamate to cyclohexylamine in human during long-term administration. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 196, 367-380
15. Roberts H. J. (1988). Reactions attributed to aspartame-containing products: 551 cases. *J. Appl. Nutr.*, 40, 85-93
16. Rozporządzenie WE 1333/2008 z dn. 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności
17. SCF. Revised opinion of the Scientific Committee on Food on cyclamic acid and its sodium and calcium salts, 9 March 2000
18. SCF. Saccharin (opinion adopted by the SCF on 2 June 1995)
19. Sękalska B. (2007). Zawartość sztucznych substancji słodzących – aspartamu, acesulfamu-K i sacharynianu sodu w napojach dietetycznych. *Żywn. Nauk. Technol. Jakość.*, 3, 52, 127-138
20. Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F. (2011). Substancje intensywnie słodzące – korzyści i zagrożenia. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 92 (3), 392-396
21. Takayama S., Renwick A. G., Johansson S. L., Thorgeirsson U. P., Tsutsumi M., Dalgard D. W., Sieber S. M. (2000). Long-term toxicity and carcinogenicity study of cyclamate in nonhuman primates. *Toxicol. Sci.*, 53 (1), 33-39
22. Toledo M. C. F., Ioshi S. H. (1995) Potential intake of intense sweeteners in Brazil. *Food Add. Contam.*, 12, 799-808

23. Waszkiewicz-Robak B., Świąder K., Świdorski F. (2007). Substancje intensywnie słodzące – Cz. I. Właściwości i warunki ich stosowania w żywności. *Przem. Spoż.*, 5, 22-26
24. Zyglar A., Wasik A., Namieśnik J. (2009). Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs. *TrAC - Trend. Anal. Chem.*, 28 (9), 1082-1102