

32. srečanje »Mladi za napredek Maribora«

PRIMERJAVA UMETNIH IN NARAVNIH SLADIL NA SRČNI UTRIP  
VODNIH BOLH (*Daphnia magna*)

INTERDISCIPLINARNO PODROČJE:

Kemija; biologija

RAZISKOVALNA NALOGA

PROSTOR ZA NALEPKO

Avtor: ALJA MAJCENOVICH, TEJA POTOČNIK

Mentor: ZDENKA KEUC

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

2015, Maribor

32. srečanje »Mladi za napredek Maribora«

PRIMERJAVA UMETNIH IN NARAVNIH SLADIL NA SRČNI UTRIP  
VODNIH BOLH (*Daphnia magna*)

INTERDISCIPLINARNO PODROČJE:

Kemija; biologija

RAZISKOVALNA NALOGA

PROSTOR ZA NALEPKO



2015, Maribor

## Vsebina

POVZETEK .....	7
ABSTRACT .....	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
ZAHVALA .....	8
1.0 UVOD .....	9
1.1 Namen raziskovalne naloge .....	10
1.2 Raziskovalna vprašanja .....	10
1.3 Hipoteze .....	11
2.0 TEORETIČNO OZADJE .....	12
2.1 Ogljikovi hidrati in njihova delitev .....	12
2.2 Presnova sladkorjev in njihov fiziološki pomen .....	12
2.3 Beli sladkor .....	13
2.3.1 Polioli .....	14
2.4 Umetna sladila .....	14
2.4.1 Pogosto uporabljena alternativna sladila, dovoljena v Sloveniji .....	16
2.5 Proteini sladkega okusa - sladila, ki jih ponuja narava .....	21
2.5.1 E 957 taumatin .....	21
2.6 Delovanje sladil kot biološko aktivnih snovi in vrednotenje njihovih učinkov .....	21
2.7 Odnos med koncentracijo in učinkom učinkovine .....	22
2.8 Avtonomni živčni sistem .....	23
2.9 Ionski kanali pri živčnih in mišičnih celicah .....	24
2.10 Senzorično zaznavanje in okus .....	25
2.11 Vodne bolhe ( <i>Daphnia magna</i> ) .....	25
2.11.1 Določitev hitrosti bitja srca vodnih bolh .....	26
3.0 EKSPERIMENTALNO DELO .....	28
3.1 Merjenje utripa srca vodnih bolh v raztopinah naravnih in umetnih sladil – 1. del .....	28
3.1.1 Materiali in oprema .....	28
3.1.2 Laboratorijsko delo – 1. del .....	30
3.2 Merjenje v raztopinah ciklamata v kombinaciji z etanolom ali destilirano vodo – 2. del .....	30
3.2.1 Laboratorijsko delo – 2. del .....	31

4.0	REZULTATI IN DISKUSIJA.....	32
4.1	Rezultati merjenja srčnega utripa vodnih bolh v raztopinah različnih koncentracij preiskovanih snovi .....	32
4.2	Rezultati merjenja srčnega utripa vodnih bolh v raztopini etanola in ciklamata .....	42
5.0	RAZPRAVA.....	44
5.1	Primerjava učinkov sladil na srčni utrip vodne bolhe glede na njihov izvor/sestavo.....	44
5.2	Srčni utrip vodnih bolh v raztopini etanola in ciklamata.....	46
6.0	ZAKLJUČKI.....	47
6.1	Možne izboljšave v nadaljnjem raziskovanju.....	48
7.0	VIRI .....	50

## Kazalo slik

Slika 1: Spremembe v prehranskem statusu dečkov in deklic (6-19 let) v letih 1988-2011-2012 (Fakulteta za šport, 2012) .....	9
Slika 2: Kemijska formula saharoze ( <a href="http://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index2.html">http://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index2.html</a> , povzeto dne 4.11.14) .....	13
Slika 3: Kemijska formula poliola ( <a href="http://www.foam-insulation.co.uk/polyurethane/polyurethane-chemistry.htm">http://www.foam-insulation.co.uk/polyurethane/polyurethane-chemistry.htm</a> , povzeto dne 29.1.2015).....	14
Slika 4: Kemijska formula saharina ( <a href="http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Saccharin-2D-skeletal.png">http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Saccharin-2D-skeletal.png</a> , povzeto dne 2.11.2014).....	16
Slika 5: Kemijska formula aspartama ( <a href="http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f0/Aspartame.svg">http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f0/Aspartame.svg</a> , povzeto dne 2.11.2014) .....	17
Slika 6: Kemijska formula natrijevega ciklamata ( <a href="http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate_Structural_Formulae_.V.1.svg">http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate_Structural_Formulae_.V.1.svg</a> , povzeto dne 2.11.2014) .....	18
Slika 7: Kemijska formula sukraloze ( <a href="http://sl.wikipedia.org/wiki/Sukraloza#mediaviewer/File:Sucralose2.svg">http://sl.wikipedia.org/wiki/Sukraloza#mediaviewer/File:Sucralose2.svg</a> , povzeto dne 2.11.2014) .....	19
Slika 8: Kemijska formula kalijevega acesulfama ( <a href="http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg">http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg</a> , povzeto dne 2.11.2014) .....	19
Slika 9: Poenostavljen prikaz kemijske sinapse med dvema nevronoma (Molek s sodel., 2014).....	24
Slika 10: Vodna bolha (Daphnia magna) ( <a href="http://en.wikipedia.org/wiki/Daphnia">http://en.wikipedia.org/wiki/Daphnia</a> , povzeto dne 3.2.2015) .....	26
Slika 11: Pripravljene raztopine (lasten vir, 5.11.2014) .....	28
Slika 12: Vodne bolhe (Daphnia magna) (lasten vir, 5.11.2014) .....	31

## Kazalo preglednic

Preglednica 1: Primerjava najpogosteje uporabljenih umetnih sladil in njihovih lastnosti.....	20
Preglednica 2: Naravna in umetna sladila, uporabljena v raziskovalni nalogi .....	29
Preglednica 3:Raztopine etanola in ciklamata uporabljene v drugem delu naloge.....	31
Preglednica 4: Srčni utrip netretiranih vodnih bolh .....	32
Preglednica 5: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine saharoze.....	32

Preglednica 9: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine maltoze .....	33
Preglednica 6: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine rjavega sladkorja .....	34
Preglednica 7: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine glukoze .....	35
Preglednica 8: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine fruktoze .....	36
Preglednica 10: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine cvetličnega medu .....	37
Preglednica 11: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine gozdnega medu .....	38
Preglednica 12: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Stevie .....	39
Preglednica 13: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Natreena .....	40
Preglednica 14: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Huxola .....	41
Preglednica 15: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine javorjevega sirupa .....	42
Preglednica 16: Srčni utrip netretiranih vodnih bolh .....	42
Preglednica 17: Srčni utrip vodne bolhe v odvisnosti od razmerja ciklamata in etanola .....	43

## Kazalo grafov

Graf 1: Graf zdravilne učinkovine v odvisnosti od koncentracije ( ) .....	23
Graf 2: Primerjava učinkov saharoze, maltoze in rjavega sladkorja na srčni utrip vodne bolhe .....	44
Graf 3: Primerjava učinkov glukoze in fruktoze na srčni utrip vodne bolhe .....	44
Graf 4: Primerjava učinkov cvetličnega medu, gozdnega medu in javorjevega sirupa na srčni utrip vodne bolhe .....	45
Graf 5: Primerjava učinkov Stevie, Natreena in Huxola na srčni utrip vodne bolhe .....	45

## Kazalo organigramov

Organigram 1: Predstavitev laboratorijskega dela (1. del) .....	29
Organigram 2: Predstavitev laboratorijskega dela (2. del) .....	30

## Okrajšave uporabljene v nalogi

ZZV – Zavod za zdravstveno varstvo

HBSC – Health Behaviour in School-aged Children

WHO – Svetovna zdravstvena organizacija (World Health Organization)

OECD - The Organisation for Economic Co-operation and Development

FDA – Food and Drug Administration

IUPAC - Mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo

IVZ RS – Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije

ADI – Available daily intake

$E_{MAX}$  – Največji učinek, ki ga ne moremo preseči z večanjem koncentracije

$EC_{50}$  – Srednja efektivna koncentracija

$ED_{50}$  – Srednji efektivni odmerek

Program za statistično urejanje podatkov: Microsoft Excel, 2010.

## POVZETEK

Preučevali smo učinek naravnih in umetnih sladil na srčni utrip vodne bolhe (*Daphnia magna*), pri čemer smo vodne bolhe opazovali pod mikroskopom in jim šteli srčni utrip. Za vsako sladilo smo pripravili pet koncentracij: 0,55 g/L, 2,75 g/L, 5,50 g/L, 55,00 g/L in 110,00 g/L. Ugotovili smo, da vsa sladila, ne glede na izvor, delujejo kot stimulansi na število srčnih utripov vodnih bolh, vendar ne enako intenzivno. Pri umetnih sladilih smo delno dokazali večjo učinkovitost, saj so bili nekateri učinki primerljivi s sladkorji. Preučevali smo tudi kombinacijo stimulansov in depresorjev, za kar smo uporabili raztopino ciklamata in etanola. Ugotovili smo, da se z enako količino umetnega sladila in etanola njun učinek ne izniči, saj to razmerje pokazalo depresorski učinek za 30%. Na osnovi rezultatov eksperimentov smo zaključili, da obstaja povezava med umetnimi sladili in porušenim ravnotežjem v telesu, torej da učinek umetnih sladil na centralni živčni sistemi ni isti kot pri sladkorjih.

Število besed: 152

Ključne besede: alternativna sladila, vodne bolhe (*Daphnia magna*),  $E_{MAX}$

## ZAHVALA

Zahvaljujema najini mentorici, ki naju je usmerjala pri delu, pomagala pridobiti ves potreben material in omogočila delo v laboratoriju. Prav tako se ji zahvaljujema za vso pomoč pri pisanju in oblikovanju naloge, iskanju literature in analizi rezultatov.

Zahvala gre tudi Zavodu za zdravstveno varstvo (ZZV) Maribor in vsem, ki so nama pomagali in naju podpirali pri raziskovanju ter na kakršen koli način omogočili izvedbo raziskovalne naloge.



## 1.0 UVOD

Uravnotežena prehrana in zadostna telesna dejavnost omogočata vzdrževanje energijskega ravnovesja med vnosom in porabo energije. Previsok prehranski vnos ter sedeč življenjski slog sta dejavnika tveganja za nastanek metabolnega sindroma in debelosti in v povezavi s tem srčno-žilnih bolezni, sladkorne bolezni tipa dve, ter raka debelega črevesa. Danska študija iz leta 1999, ki je zajela 983 otrok med 4. in 14. letom starosti je pokazala, da je večina sladkorja, ki ga otroci zaužijejo, podpira koncept t.i. »praznih kalorij«, saj gre večinoma za sladkor, ki je zelo dodan, ne pa sladkor v naravni obliki, ki je npr. prisoten v sadju, in z njegovim uživanjem pridobimo tudi druge pomembne sestavine, kot so vitamini ali vlaknine (Lyhne s sodel., 1999). Po navedbah Blenkuš Gabrijelčičeve (2013) je nepravilna prehrana pomemben dejavnik tveganja za zdravje tudi pri Slovencih in v kar v 38% tesno povezana z nastankom kroničnih nalezljivih bolezni, pri dodatnih 40% pa deloma vpliva na njihov nastanek. Tudi zadnje raziskave, narejene pri slovenskih mladostnikih so zaskrbljujoče. Raziskava z zdravjem povezanim vedenjem v šolskem obdobju (HBSC, 2010) je pokazala, da sadje in zelenjavo vsak dan v skladu s priporočili uživa le 1/5 otrok<sup>1</sup> (Jeriček s sodel., 2011). Glede na količino zaužitih sladkih pijač slovenski mladostniki predstavljajo sam vrh v EU, čeprav raziskava kliničnega centra v Ljubljani kaže, da v celoti vnesejo v telo premalo tekočine (900 mL, namesto priporočenih 1500 mL). V energijskem deležu predstavlja vnos sladkih pijač 10% celodnevne vnosa pri dekletih in 11% pri fantih starih med 13 in 15 let. Vnos prostih sladkorjev pri mladostnikih znaša 16% celodnevne energijske vnosa, kar je precej več od priporočila svetovne zdravstvene organizacije (WHO, 2003), to je 10%. Po podatkih fakultete za šport (baza SLOFIT, katere osnova je športni karton), ki vsako leto zajame 95% vseh slovenskih osnovnošolcev in srednješolcev (od 7 do 19 leta), je med leti 1996 do 2006 pokazala kar 40% porast prekomerne teže, trend naraščanja pa se še nadaljuje, kot je to razvidno iz Slike 1. .

Prekomerna prehranjenost	1988	2011	2012
<b>FANTJE</b>			
Predstopnja debelosti	15,80%	19,60%	19,80%
Debelost	4,30%	7,40%	7,30%
Prekomerna prehranjenost - SKUPAJ	20,10%	27,00%	27,10%
<b>DEKLETA</b>			
Predstopnja debelosti	13,70%	17,10%	17,20%
Debelost	3,30%	5,60%	6,50%
Prekomerna prehranjenost - SKUPAJ	17,00%	22,70%	23,70%

Slika 1: Spremembe v prehranskem statusu dečkov in dekl�ic (6-19 let) v letih 1988-2011-2012 (Fakulteta za šport, 2012)

IVZ RS je leta 2014 poročal, da je vsak tretji otrok v Sloveniji predebel (OECD, 2014). Vsak peti otrok od petega do 17. leta, ki živi v eni od 34 članic OECD, je prav tako predebel. Število otrok s prekomerno

<sup>1</sup> V tej skupini so otroci, ki so blagostanje v družini ocenili nadpovprečno (boljši socialni status), mladostniki z boljšim učnim uspehom in tisti, ki obiskujejo zahtevnejše srednješolske programe.

telesno težo narašča tudi v svetu, pri čemer je Severni in Južni Ameriki bilo leta 2006 kar 32% otrok s prekomerno telesno težo (Jackson-Leach s sodel., 2006).

V Sloveniji je v pripravi ukrep dviga cen pijač z dodanim sladkorjem, ki dokazano vplivajo na razvoj metabolnega sindroma, debelosti in sladkorne bolezni tipa 2. Ena do dve sladki pijači na dan povzročita 26% tveganje za razvoj diabetesa tipa II (Blenkuš Gabrijelčič, 2013). Kronične bolezni, kot so debelost, diabetes tipa 2 in srčno-žilne bolezni, pa skupaj predstavljajo kar 77% bolezni prebivalcev evropske unije (Blenkuš Gabrijelčič, 2013). Posledice so tudi za zdravstveno blagajno obremenjujoče, zato je Slovenije že pripravila strateški dokument, s katerim bi omejili naraščanje debelosti in nepravilnih prehranskih navad med mladostniki (Prehrana in gibanje za zdravje, 2013- 2023).

Ena od poti za zmanjšanje vnosa sladkorjev je uporaba umetnih sladil. Gre za snovi, ki so lahko nekajkrat slajšega okusa kot je saharoza, vendar nimajo prehranske vrednosti ali pa bistveno nižjo kot saharoza. V večini pripravkov, ki se oglašujejo kot »zero sugar«/»brez sladkorja«, okus pijačam zagotavljajo predvsem umetna sladila. Nekatera med njimi so bila nekoč v široki uporabi<sup>2</sup>, vendar kasneje doživela prepoved zaradi dokazano karcinogenih učinkov (npr. saharin, natrijev ciklomat). Na trg so prišla nova sladila kot je aspartam, acesulfam K, sukraloza in neotam, različni poliololi (sorbitol, xylitol), stevia itd., za katera lahko v različnih virih beremo zelo nasprotujoče si učinke na človeški organizem; od popolne varnosti, do velikih tveganj (npr. aspartam in njegov nadomestek neotam). Ker so umetna sladila prisotna v izjemno velikem številu pijač in prehranskih izdelkih (jogurti, mesni izdelki, sladice, itd.), smo z nalogo želeli preučiti, kakšen fiziološki učinek ta sladila povzročajo, če so dodana samostojno, ali če so v kombinaciji z alkoholom, ki je prav tako problem sodobne civilizacije. Rezultate želimo primerjati z učinkom najbolj uravnoteženega naravnega sladila, to je med. Kot objekt preučevanja smo izbrali vodne bolhe (*Daphnia magna*) – vpliv na njihov srčni utrip.

## 1.1 Namen raziskovalne naloge

Osnovni cilj raziskovalne naloge je ugotoviti, kako naravna in umetna sladila v različnih koncentracijah ali v kombinaciji z etanolom vplivajo na srčni utrip vodne bolhe. Vodne bolhe so zaradi podobnega avtonomnega živčevja, ki uravnava hitrost bitja srca, odličen modelni organizem za ugotavljanje učinkov, ki bi jih preučevane snovi utegnile imeti na človeški organizem (Molek s sodel., 2014).

## 1.2 Raziskovalna vprašanja

Z raziskavo smo iskali odgovore na naslednja vprašanja:

1. Ali imajo umetna in naravna sladila enak učinek na srčni utrip vodnih bolh, torej ali so vsa sladila stimulanse (snovi, ki pospešuje srčni utrip) ali depresorji (snovi, ki upočasnjujejo srčni utrip)?

---

<sup>2</sup> predvsem zaradi pomanjkanja sladkorja v času med prvo svetovno vojno in po njej (npr. saharin) – op- avtoric

2. Ali je vpliv sladila na število utripov povezan s koncentracijo tega sladila? Kolikšna je koncentracija sladila z maksimalnim učinkom ( $E_{MAX}$ ), tj. največjim učinkom, ki ga ne moremo preseči z večanjem koncentracije?
3. Kolikšna je učinkovitost preučevanih sladil s srednjo efektivno koncentracijo ( $EC_{50}$ ), oziroma odmerkom ( $ED_{50}$ )?
4. Kako deluje ciklamat kot predstavnik umetnih sladil v kombinaciji z alkoholom (znanim depresorjem) na srčni utrip vodnih bolh (*Daphnia magna*)?

### 1.3 Hipoteze

**Hipoteza 1:** Sladkorji so naravni stimulansi, zato so tudi vsa umetna sladila stimulansi. Saharoza povzroči večje sproščanje serotonina in dopamina, dvig ravni glukoze v krvi, razgradnja le-te v (vir energije) pa poveča srčni utrip.

**Hipoteza 2.** Umetna sladila so v enakih koncentracijah kot naravna sladila boljši stimulansi (srčni utrip vodnih bolh bo višji), saj so nekajkrat slajša kot naravna sladila.

**Hipoteza 3:** Učinek preučevanih naravnih in umetnih sladil bo odvisen od koncentracije snovi. Višja kot je koncentracija sladila, hitrejši je utrip vodne bolhe.

**Hipoteza 4:** Če sladila pospešujejo srčni utrip, ga etanol upočasnjuje. Srčni utrip vodnih bolh po izpostavljenosti v raztopini z enako količino umetnega sladila in etanola bo enak srčnemu utripu netreniranih vodnih bolh.

V nalogi bomo uporabili kombinacijo različnih raziskovalnih metod dela. Najprej bova s pomočjo študija ustrezne literature preučili lastnosti snovi, ki so predmet raziskave; sledil bo študij njihovega učinka na telo in nato praktičen del, kjer bova s pomočjo opazovanja učinkov različnih koncentracij izbranih sladil, poskušali oblikovati odgovore na zastavljena raziskovalna vprašanja.

## 2.0 TEORETIČNO OZADJE

### 2.1 Ogljikovi hidrati in njihova delitev

Sladkorje (ogljikove hidrate) lahko delimo:

- v enostavne (monosaharidi), kamor spadata sadni in grozdni sladkor (fruktoza in glukoza);
- disaharide, ki so kombinacija dveh monosaharidov; primeri so saharoza (glukoza in fruktoza) in laktoza (glukoza in galaktoza) in maltoza (dve molekuli glukoze);
- polisaharide, ki so sestavljeni iz več tisoč molekul monosaharidov (npr. celuloza in škrob).

V vsakodnevni prehrani zaužijemo največ saharoze (kuhinjski sladkor), laktoze (mlečnega sladkorja) ter preko sadja in zelenjave še fruktoze in glukoze ter škroba (Mohorič, 2008).

Umetna sladila delimo na poliole in alternativna sladila brez hranilne vrednosti. Prvi so derivati sladkorjev in imajo podobno sladkost, medtem ko drugi, nimajo hranilne vrednosti, zato z njihovim zaužitjem ne dobimo oz. dobimo zelo malo energije (Weinrauch s sodel., 2004).

### 2.2 Presnova sladkorjev in njihov fiziološki pomen

Po vsakem zaužitem obroku hrane se koncentracija glukoze v krvi močno poveča. Koncentracija glukoze v krvi je natančno uravnavana, njena vrednost pa v nobenem trenutku ne sme pasti pod spodnjo referenčno vrednost 3,6mmol/L (Skitek, 2015)<sup>3</sup>. To je še posebej pomembno za celice živčevja, ki v normalnih razmerah pridobivajo energijo izključno z oksidativno razgradnjo glukoze (Stušek s sodel., 2010).

Presnova organizma je evolucijsko prilagojena tako, da se v obdobjih prekomernega vnosa hranil energija shranjuje, v obdobjih pomanjkanja vnosa hranil, pa se shranjena oziroma uskladiščena energija porablja. Po zaužitem obroku se višek glukoze vključi v anabolni proces imenovan glikogenoliza, to je proces pretvorbe glukoze v glikogen. Sposobnost skladiščenja glikogena imajo zgolj jetrne celice in skeletnomišična vlakna, v katerih je sposobnost skladiščenja glikogena omejena. Preostanek glukoze, ki je jetrne celice in skeletnomišična vlakna ne morejo skladiščiti, se pretvori v proste maščobne kisline, ki se v obliki trigliceridov skladiščijo v maščobnih celicah. Proces razgradnje glikogena imenujemo glikogenoliza (Stušek s sodel., 2010).

Prva stopnja razgradnje glukoze je glikoliza, v kateri iz glukoze nastaneta dve molekuli piruvata in ATP. Druga stopnja poteka ob prisotnosti kisika, pričanja pa se s Krebsovim ciklusom, v katerega vstopa piruvat preko acetil koencima A. Glukoza se v tem ciklusu razgradi do ogljikovega dioksida in vode. Pri tem se sprostijo protoni, ki vstopajo v dihalno verigo, v kateri poteka oksidativna fosforilacija, ob tem pa se sprosti energija v obliki ATP. Druga stopnja poteka izključno v mitohondrijih. Nekatera tkiva oziroma celice nimajo

---

<sup>3</sup> Povzeto po: Doc.dr. Milan Skitek, „Najpogostejše laboratorijske preiskave in njihove orientacijske referenčne vrednosti v klinični praksi. Univerzitetni Klinični center Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo. Dostopno na: <http://www.mf.uni-lj.si/dokumenti/0a3bd1df2e66c9c75385ab17ed124de8.pdf> (1.2. 2015)

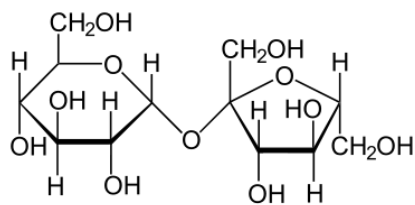
mitochondrijev in pridobivajo energijo samo v procesu glikolize. Takim tkivom pravimo glikolitična tkiva, to so npr. eritrociti (rdeče krvne celice) (Stušek s sodel., 2010).

Poseben proces v presnovi ogljikovih hidratov je glukoneogeneza, v katerem glukoza nastaja iz t.i. nesladkornih virov, kot so mlečna kislina, glicerol in nekatere aminokislino. Najpomembnejši nesladkorni vir so aminokislino, ki se lahko pretvorijo v aminokislino alanin, ta pa v piruvat, iz katerega lahko nastane glukoza. Glicerol nastane tudi pri razgradnji trigliceridov. Laktat v normalnih razmerah nastaja v glikolitičnih tkivih pri razgradnji glukoze. Glukoneogeneza poteka v glavnem v jetrih, lahko pa tudi v kostnih celicah in v skorji ledvic in je bistvena za preživetje organizma med stradanjem (Stušek s sodel., 2010).

Raziskovalci univerze Yale (2013) so dokazali, da užitek pri uživanju sladkih jedi izhaja iz količine energije, ki jo pričakujemo od tega početja. Raziskovalci so merili obnašanje in odzive možganov pri miših, ki so dobile bodisi sladkor bodisi umetna sladila. Ko so miši za potešitev svoje želje po sladkem dobile alternativno sladilo, so hitro izgubile zanimanje in si želele pravi. Znanstveniki so prepričani, da ljudje reagiramo enako, ko smo lačni ali utrujeni, in pojemo nizkokalorično jed. Ko telo presnavlja sladkor v gorivo za celice, se zviša raven dopamina, hormona, ki pripomore k občutkom zadovoljenosti in nagrajenosti. To je signal, da je telo zadostilo svojim potrebam po energiji. Pri uživanju umetnih sladil »nagrajenosti« ni. Dosedanje raziskave na ljudeh, ki so hujšali s pomočjo umetnih sladil ali nizkokaloričnih nadomestkov, so pokazale, da je v večini primerov vnos kalorij zaradi povečanih količin hrane večji (Reuters, 2013)<sup>4</sup>.

### 2.3 Beli sladkor

Beli sladkor ali saharoza ja najbolj pogosto uporabljeno sladilo. Saharoza je disaharid, sestavljen iz glukoze in fruktoze (slika 2).



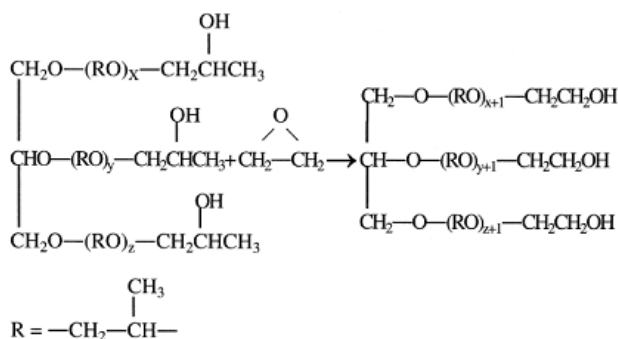
Slika 2: Kemijska formula saharoze (<http://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index2.html>, povzeto dne 4.11.14)

Sladkor se danes prideluje predvsem iz sladkornega trsa in sladkorne pese. Za sladkor iz sladkornega trsa (rjavi) velja, da je bolj zdrav kot sladkor iz sladkorne pese (bel), toda to drži le v kontekstu tega, da je za njegovo uporabo potrebno manj kemijske predelave in da zaradi tega vsebuje nekoliko več mineralov in vitaminov kot beli sladkor, ki predstavlja bolj ali manj čisto snov (Dolenc s sodel., 2010).

<sup>4</sup> Povzeto po: Umetna sladila možganov ne preslepijo (<http://www.delo.si/druzba/zdravje/umetna-sladila-mozganov-ne-preslepijo.html>, povzeto 1.2. 2015).

### 2.3.1 Polioli

Polioli so alkoholi, ki vsebujejo več hidroksilnih skupin. Poznamo jih tudi pod imenom sladkorni alkoholi (ang. *sugar alcohols*)- Imajo pol manj kalorij kot saharoza. Kot sladilo se uporabljajo v sladkarijah, sladicah, pijačah oz. v vseh živilih, ki lahko vsebujejo sladkor. Prav tako jih uporabljajo v zobnih pastah, ustnih vodicah ter nekaterih farmacevtskih produktih. Vsi imajo sladek okus, a se pri zaužitju ne spremenijo v kislino, kar pomeni da zobem ne škodujejo tako kot beli sladkor. Ker pa imajo tudi manj kalorij, se pri njihovem zaužitju delež sladkorja v krvi ne zviša tako močno (Fernstrom s sodel., 2012).



Slika 3: Kemijska formula poliola (<http://www.foam-insulation.co.uk/polyurethane/polyurethane-chemistry.htm>, povzeto dne 29.1.2015)

### 2.4 Umetna sladila

Prvo alternativno sladilo predstavlja saharin, odkrit leta 1879, ko je kemijski laborant Constantine Fahlberg v univerzitetnem laboratoriju John Hopkins med delom na novem prehrabnem konzervansu zaspal in po nesreči po rokah polil mešanico, s katero se je ukvarjal. Presenetil ga je njen izjemno sladek okus. Njen nastanek je rekonstruiral na podlagi zapiskov ter jo poimenoval saharin, saj v latinščini sladkorju pravimo *saccharum* (Trček, 2012). Bil je izjemno priljubljeno sladilo v času obeh sv. vojn.

Pol stoletja kasneje, leta 1937, je podiplomski študent Michael Sveda delal na sintezi novega proti vročinskega zdravila in naključno odkril natrijev ciklamat. V začetku so ga uporabljali za izničevanje grenkega okusa v antibiotikih in drugih zdravilih, kasneje pa tudi kot sladilo v tabletah in v tekoči obliki (Weinrauch s sodel., 2004).

Ko so leta 1966 ugotovili, da mešanica ciklamata in saharina pri podganah lahko povzroča raka na mehurju in moško impotenco, je prepoved uporabe doletela tako enega kot drugega<sup>5</sup>. Ciklamat je še danes prepovedan v Ameriki in nekaterih drugih državah, v več kot 50 državah sveta pa je njegova uporaba dovoljena (Weinrauch s sodel., 2004), tudi v Sloveniji (Poročilo o spremljanju stanja glede uporabe in uživanja aditivov v živilih, 2011).

Njuna prepoved je sprožila plaz raziskav, namenjenih odkritju novih oblik umetnih sladil. Tudi naslednje alternativno sladilo – aspartam – je bilo odkrito povsem slučajno, in sicer leta 1965 v laboratoriju G. D.

<sup>5</sup> Kasnejše študije so pokazale, da pri ljudeh nimata takšnega učinka v odmerkih, ki jih običajno uporabljamo.

Searle and Co., medtem ko je Mr. James Schlatter delal na odkritju novega zdravila za zdravljenje čirov. Podobno kot Fahlberg, je tudi Schlatter po nesreči okusil svojo zmes in zaznal njen izjemno sladek okus. Šele šestnajst let kasneje, leta 1981, je bila ameriška FDA (*Food and Drug Administration*) dovolila aspartam za uporabo v redni prodaji, saj se je pokazalo, da je ta v priporočenih količinah neškodljiv za zdravje ljudi. Po številnih študijah, je leta 1996 odobreno njegovo dodajanje hrani in pijači za množično uporabo, kot so sirupi, solatni prelivi, sokovi in celo nekateri prigrizki (Weinrauch s sodel., 2004).

Tretje alternativno sladilo, acesulfam K, je leta 1967 odkril A.G. Hoechst. Leta 1992 se začel uporabljati v žvečilkah in suhi hrani, od leta 1998 FDA dovoljuje njegovo uporabo tudi v pijačah (Trček, 2012).

Novejše alternativno sladilo, sukraloza, so v podjetju Tate & Lyle odkrili leta 1976 in predstavlja klorirani derivat sladkorja. Od leta 1991, ko je Kanada prva dovolila njegovo uporabo, ga danes dovoljujejo v 80 držav, v Evropski uniji pa od leta 2004 (Weinrauch s sodel., 2004), tudi v Sloveniji.

Sladila morajo, preden so predstavljena na trg, odobriti pristojne nacionalne agencije odgovorne za to področje. Pri tem se osredotočijo na opredelitev dnevnega vnosa in varnost pri zaužitju večje količine oz. odmerka kot je predpisano. Ker pa je teh agencij več, in se med seboj ne strinjajo vedno, vsa alternativna sladila niso dovoljena v vseh državah. Pravilnik o aditivih za živila (Ur.l. RS 43/2004, 8/2005, 17/2006, 16/2008, 45/2008 in 100/2010) podaja seznam sladil in živil, katerim se lahko dodajajo sladila. Prehranski vnos prebivalcev Slovenije, skladno z dogovorjeno metodologijo, se ocenjuje za sladila: *Acesulfam K, Aspartam, Ciklamno kislino in njene natrijeve in kalcijeve soli, Saharin ter njegove natrijeve, kalijeve in kalcijeve soli, Taumatin, Neohesperidin DC, Sukralozo, Soli aspartam-acesulfama in Neotam*. Pravilnik pravi, da mora imeti dodajanje sladil živilom za potrošnika prednosti in ugodnosti, ter se uporablja za nadomeščanje sladkorjev za proizvodnjo živil z zmanjšano energijsko vrednostjo, živil proti kariesu ali živil brez dodanih sladkorjev. Sladila lahko nadomeščajo sladkorje tudi v primeru, če je s tem omogočen podaljšan rok uporabnosti ali če so proizvedena živila za posebne prehranske namene (Pravilnik, 2010). V nadaljevanju sledi kratka predstavitev sladil, ki so prisotna v vsakodnevni prehrabnih izdelkih.

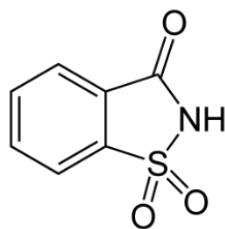
## 2.4.1 Pogosto uporabljena alternativna sladila, dovoljena v Sloveniji

### E 954 Saharin ter njegove natrijeve, kalijeve in kalcijeve soli

Kemijsko je saharin sulfonil amid, aromatični ogljikovodik, ki je toplotno stabilen, torej je primeren za kuhanje in peko, ter ima dolgi rok uporabe. Njegovo IUPAC ime je 1,1-dioksi-1,2-benzotiazol-3-on (Wikipedija, 2014). Najpogosteje se uporablja kot natrijeva ali kalcijeva sol, saj v svoji osnovni obliki ni topen v vodi. Njegova molekulska formula je  $C_7H_5NO_3S$  (Whitehouse s sodel., 2008).

Je 300 do 500-krat slajši kot sladkor in je pogost dodatek zobnim kremam ter dietni hrani in pijačam. Pogosto je v kombinaciji z drugimi umetnimi sladili, kot sta ciklamat in aspartam (v državah, kjer sta oba dovoljena). Priporoča se za diabetike, saj se ne presnavlja in se skozi ledvice hitro izloči iz organizma.

Znanstveni odbor za hrano pri Evropski komisiji (SCF), je leta 1995 in 1997 presojal varnost saharina in njegovih natrijevih, kalijevih in kalcijevih soli in z upoštevanjem znanstvenih spoznanj določil sprejemljivi dnevni vnos (ADI) za natrijevo sol saharina 0 – 5 mg/kg oziroma, če je izražen v kislinski obliki, z upoštevanjem molskih mas, 0 – 3,8mg/kg. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 9,6% ADI (izraženega kot natrijeva sol) (Whitehouse s sodel., 2008).



Slika 4: Kemijska formula saharina (<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Saccharin-2D-skeletal.png>, povzeto dne 2.11.2014)

### E 951 Aspartam

Varnost aspartama je bila v času uporabe večkrat presojana (zadnjič 2006); določen je bil sprejemljivi dnevni vnos (ADI) 0 – 40 mg/kg, ki ostaja nespremenjen tudi po predložitvi nekaterih novih znanstvenih spoznanj v letu 2009 in 2010. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 5,9% ADI<sup>6</sup>.

Aspartam je metilester dipeptida naravnih aminokislin L-asparaginske kisline in L-fenilalanina. V vodi in alkoholu se slabše topi, vendar je stabilnost raztopljenega aspartama odvisna od pH tekočine. Zaradi svoje

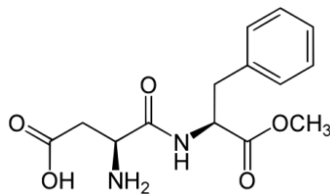
<sup>6</sup> Povzeto po:

[http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA\\_PODROCJA/Zivila/aditivi\\_arome\\_encimi/ADITIVI\\_OCE\\_NA\\_VNOSA\\_final-2010.pdf](http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA_PODROCJA/Zivila/aditivi_arome_encimi/ADITIVI_OCE_NA_VNOSA_final-2010.pdf) (1.2. 2015)



sestave ni primeren za termično obdelavo, saj pri visokih temperaturah razpada do aminokislin. Molekulska formula je  $C_{14}H_{18}N_2O_5$  (Weinrauch s sodel., 2004).

Sladilna moč aspartama je 150 do 200-krat večja kot saharozna. V primerjavi z drugimi umetnimi sladili je aspartam energijsko močnejši, saj vsebuje 4 kcal/g. V organizmu se razgrajuje v osnovne komponente, med katerimi so aspartamska kislina, fenilalanin, metanol in le-ta naprej v formaldehid in metanojsko kislino. Študije kažejo, da zastrupitev z metnolom in metanalom ni mogoča, ker se zelo hitro izloči iz telesa (Humpries s sodel., 2008).<sup>7</sup> Petdeset odstotkov aspartama sestavlja fenilalanin, ki se po zaužitju v jetrih razgradi v tirozin, ali pa ostane nespremenjen. Kopičenje fenilalanina v telesu povzroča fenilketonurijo, dedno bolezen, za katero je značilna okvara na možganih. To vodi do povečane izgradnje dopamina in serotonina, ki pa vpliva na vedenje, spanec in apetit (Humpries s sodel., 2008, povzeto po Schleidt s sodel., 2009). To dejstvo, aspartam uvršča med zelo sporna umetna sladila, čeprav, asparaginska kislina, ki je nevrotoksin v centralnem živčnem sistemu lahko vsebuje kar štirideset odstotkov aspartama. Kislina poveča depolarizacijo na postsinaptični membrani, kar postopno povzroči okvaro delovanja nekaterih encimov (Magnuson, 2007, povzeto po Schleidt s sodel., 2009). Zato velja splošno priporočilo, da zmanjšamo ali celo prenehamo z uživanjem izdelkov, ki ga vsebujejo. V Evropi ga poznamo kot E 951.<sup>8</sup>



Slika 5: Kemijska formula aspartama (<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f0/Aspartame.svg>, povzeto dne 2.11.2014)

<sup>7</sup> Tukaj so mnenja v različnih virih zelo nasprotujoča. Metanol se v jetrih pretvori v formaldehid ali metanal, ki je znan kot nevrotoksin (snov, ki poškoduje živčno tkivo) in karcinogen (snov, ki je rakotvorna) (Humpries s sodel., 2008, povzeto po Schleidt s sodel., 2009). Formaldehid se naprej pretvori v metanojsko kislino, ki se kopiči v možganih, ledvicah, hrbtnični tekočini in drugih organih, zaradi česar pride do presežka ali acidoze. Zastrupitev z metanolom povzroča tudi omotico, glavobol in nihanja razpoloženja, kar pa so simptomi, značilni za prekomeren odmerek aspartama. (Thomas, 2005, povzeto po Schleidt s sodel., 2009). Njegove stranske učinke povezujejo predvsem z zdravstvenimi težavami, kot so glavoboli in migrene, razdražljivost, hiperaktivnost, vrtoglavica in izguba zavesti, nespečnost, razdražljivost, plešavost, težave s spolnostjo in podobno. Krivijo ga celo za povzročitev in spodbujanje sprememb na možganih, kot so tumorji, pojav Parkinsonove in Alzheimerjeve bolezni, multiple skleroze, epilepsije, zadnje čase pa ga povezujejo z možnostjo razvoja levkemije

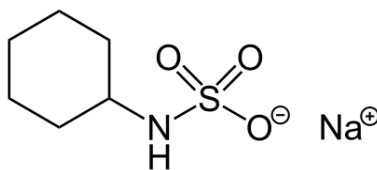
<sup>8</sup> Updated Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food on a request from the European Commission related to the 2nd ERF carcinogenicity study on aspartame taking into consideration study data submitted by the Ramazzini Foundation in February 2009. The EFSA Journal (2009) 1015, 1-18. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1015.pdf>

## E 952 Ciklamna kislina in njene natrijeve in kalcijeve soli

Ciklamat ali ciklamna kislina se prav tako kot saharin uporablja kot natrijeva ali kalcijeva sol, ker je le tako topen v vodi. Ima molekulska formulo  $C_6H_{12}NNaO_3S$ . Gre za termo stabilno spojino, ki jo lahko kuhamo in pečemo.

V primerjavi s sladkorjem je 30- do 50-krat slajše sladilo; zaradi možnega slankastega okusa se najpogosteje meša s saharinom in aspartamom. Znanstveni odbor za hrano pri Evropski komisiji (SCF, 2000) je določil sprejemljivi dnevni vnos 0 – 7 mg/kg. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 11,7% ADI.<sup>9</sup>

Zaradi raziskav iz sedemdesetih let prejšnjega stoletja, ki so ga povezale z možnostjo atrofije moških spolovil in moške impotence, poškodb ledvic in škodljivega vpliva na plod, je ciklamat največkrat prepovedano alternativno sladilo na svetu (Whitehouse, 2008).



Slika 6: Kemijska formula natrijevega ciklamata

([http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate\\_Structural\\_Formulae\\_.V.1.svg](http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate_Structural_Formulae_.V.1.svg), povzeto dne 2.11.2014)

## E 955 Sukraloza

Sprejemljivi dnevni vnos za sukralozo je 0 – 15 mg/kg. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 7,1% ADI. Sukraloza je klorirana molekula saharoze. Je dobro topna v vodi in alkoholih in je termo stabilna, torej primerna za segrevanje pri pripravi jedi. Molekulska formula je  $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$ .

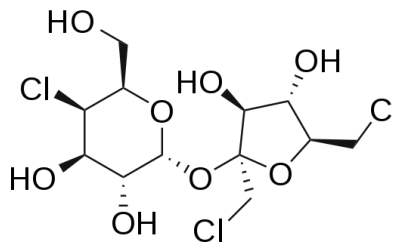
Tudi sukraloze naš organizem ne presnavlja in je brez kalorij, razen, ko jo mešamo z drugimi sladili ali visoko fruktoznimi sirupi, kot sta maltodekstrin in dekstroza, ki jih dobivamo iz koruze. Je kar 600-krat slajša kot navaden sladkor. Uporablja se predvsem v različnih fitnes prehranskih dodatkih in ploščicah, v pijačah; tudi svetovne prehranske verige, kot sta McDonald's in Starbucks, jo uporabljajo pri pripravi svojih izdelkov.<sup>10</sup>

Njeno izjemno popularnost zadnje čase lahko pripišemo tudi temu, da znanstveniki do zdaj niso ugotovili njenih škodljivih vplivov ali rakotvornosti bodisi na prebavni, reproduktivni ali nevrološki sistem v človeškem

<sup>9</sup> REVISED OPINION ON CYCLAMIC ACID AND ITS SODIUM AND CALCIUM SALTS, SCF/CS/EDUL/192 final, 13 March 2000  
[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53_en.pdf) (1.2. 2015)

<sup>10</sup> 32 Opinion of the Scientific Committee on Food on sucralose, SCF/CS/ADDS/EDUL/190 Final 12/9/2000,  
[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out68\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out68_en.pdf) (1.2. 2015)

telesu. Kljub temu nekatere raziskave kažejo, da lahko celo za 50 odstotkov zmanjša delež koristnih bakterij v naši črevesni flori, zviša kislost organizma in vpliva na pridobivanje telesne teže (Whitehouse, 2008).

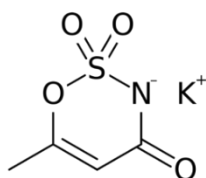


Slika 7: Kemijska formula sukraloze (<http://sl.wikipedia.org/wiki/Sukraloza#mediaviewer/File:Sucralose2.svg>, povzeto dne 2.11.2014)

### E 962 Soli aspartam-acesulfama

Varnost soli aspartama-acesulfama pokrivata sprejemljiva dnevna vnosa (ADI) za aspartam 0 – 40 mg/kg tm/dan in za acesulfam K 0 – 9 mg/kg. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 2,9% ADI za aspartam in največ 12,9% ADI za acesulfam K.<sup>11</sup>

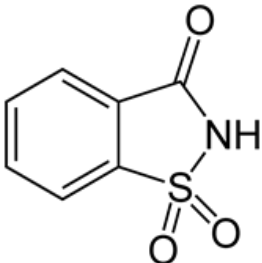
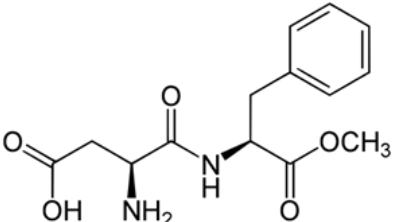
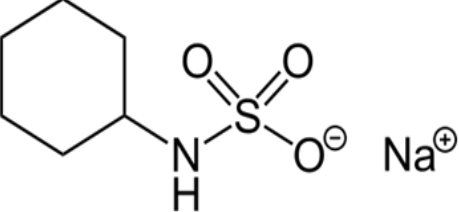
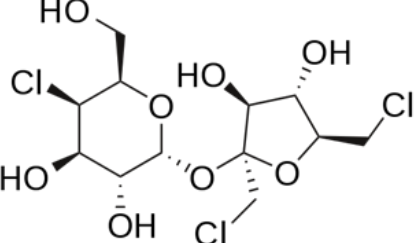
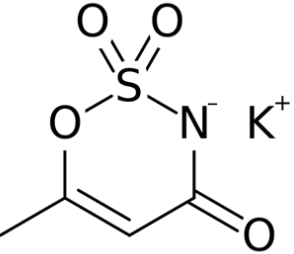
Kalijev acesulfam je kalijeva sol, beli kristalni prah z molekularno formulo  $C_4H_4KNO_4S$ . Acesulfam K je toplotno stabilen pri pH = 7, kar omogoča njegovo uporabo v izdelkih z daljšim rokom uporabe, ki so namenjeni kuhanju in peki. Topen je tako v mrzli kot v topli vodi. Kalijev acesulfam je 180-krat do 200-krat slajši od sladkorja. Pogosto ga mešamo z drugimi umetnimi sladili, v gaziranih pijačah pa najpogosteje s sukralozo in aspartamom. Tudi tega sladila ljudje ne presnavljamo in ga izločamo nespremenjenega skozi ledvice, torej je nekalorično. Obstaja sum na rakotvornost, vendar raziskave tega še niso potrdile. (Whitehouse, 2008).



Slika 8: Kemijska formula kalijevega acesulfama ([http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev\\_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg](http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg), povzeto dne 2.11.2014)

<sup>11</sup>Minutes of the 120 th Meeting of the Scientific Committee on Food held on 8-9 March 2000 in Brussels, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out57\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out57_en.html) (1.2. 2015)

Preglednica 1: Primerjava najpogosteje uporabljenih umetnih sladil in njihovih lastnosti

IME	MOLEKULSKA FORMULA	SKELETNA FORMULA	SLADKOST GLEDE NA SAHAROZO	E-ŠTEVILKA	ADI
SAHARIN	$C_7H_5NO_3S$		300-500 krat slajši	E954	5 mg/kg
ASPARTAM	$C_{14}H_{18}N_2O_5$		150-200 krat slajši	E951	40 mg/kg
CIKLAMAT	$C_6H_{12}NNaO_3S$		30-50 krat slajši	E952	7 mg/kg
SUKRALOZA	$C_{12}H_{19}Cl_3O_8$		600 krat slajša	E955	15 mg/kg
KALIJEV ACESULFAM	$C_4H_4KNO_4S$		180-200 krat slajši	E950	0-9 mg/kg

## 2.5 Proteini sladkega okusa - sladila, ki jih ponuja narava

Poznamo šest sladkih proteinov in enega, katerega okus se spreminja. Čeprav so jih znanstveniki odkrili pred kratkim, in sicer v plodovih rastlin tropskega pasu, so jih tamkajšnji prebivalci, kot vir sladkorja, uporabljali že stoletja. So več 1000-krat bolj sladki od saharoze, vendar so njihove kemijske zgradbe različne. Podobni so proteinom iz skupin, v katere uvrščamo ne sladke proteine. To je tudi razlog, da znanstveniki še niso odkrili določenega dela verige, ki jim daje sladek okus; verjetno so to lastnost pridobili skozi evolucijo. Večina proteinov je termično obstojnih in kemijsko stabilnih, kar je posledica disulfidnih vezi, ki omejujejo konformacijske spremembe in porušitev terciarne strukture, ki je nujna za sladek okus (Berlec s sodel., 2006).

Pridobivanje proteinov je tudi z današnjo tehnologijo zapleteno, saj rastline, v katerih jih najdemo, ne proizvajajo plodov izven svojih naravnih okolij. To je tudi razlog, da se proizvaja samo taumatina, poznamo pa tudi monelin, brazein, pentadin, mabinlin, kurkulin, mirakulin in vrste drugih (Berlec s sodel., 2006).

### 2.5.1 E 957 taumatina

Taumatina je mešanica intenzivno sladkih beljakovin (taumatina), med katerimi prevladujeta taumatina I in II, in se nahajajo v sadežih zahodnoafriške rastline *Thaumatococcus daniellii*. Sestavlja ga 207 aminokislinskih ostankov in ima 8 intramolekularnih disulfidnih vezi, ki prispevajo k njegovi terciarni strukturi in zaradi katerih je termo-stabilen, ter odporen na denaturacijo. Že cepitev ene same S-S vezi pomeni izgubo sladkega okusa. Ne povzroča zobne gnilobe, po zaužitju pa se v človeškem organizmu presnavlja enako kot običajne beljakovine. Spada med nizkokalorična naravna sladila in je 2000 do 3000-krat slajši od saharoze in velja za eno najbolj sladkih naravnih substanc, odkritih do sedaj.

Po sistemu označevanja s števili E ima številko E957 (Mortensen, 2006). Sprejemljivi dnevni vnos zaradi nizke akutne toksičnosti in pomanjkanja študij glede dolgotrajne izpostavljenosti (še) ni določen<sup>12</sup>. Ocena teoretičnega največjega dnevnega vnosa, pri odraslem s telesno maso 70kg, dosega največ 0,044 mg/kg.

Posebnost taumatina je v tem, da njegov intenzivno sladek okus zaznajo le višji primati, med njimi tudi človek. Taumatina se v Ameriki lahko uradno uporablja le v žvečilnih gumijih, medtem ko je v Evropi in mnogih drugih državah uradno dovoljen tudi kot sladilo (Mortensen, 2006).

## 2.6 Delovanje sladil kot biološko aktivnih snovi in vrednotenje njihovih učinkov

Biološko aktivne snovi se vežejo na/v organizem; največkrat so to kovalentne vezi. Mesto vezave so receptorske celice ali tarčne molekule. Te so največkrat proteini, ki imajo številne funkcije – lahko so encimi, strukturni proteini, hormoni, DNA ali membrane (lipidi). Da neko snov prepoznamo kot biološko aktivno, mora izkazovati močno vezavo na specifično tarčno molekulo. Če tudi v vseh poskusih snov izkazuje močne učinke, ni nujno da bo tako delovala tudi v človeškem organizmu. Zato je potrebno najprej preizkusiti

---

<sup>12</sup> Taumatina, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v20je15.htm>, (1.2 2015)

delovanje na celoten organizem, običajno najprej na laboratorijskih živalih, nato pa na zdravih in bolnih prostovoljcih (klinična testiranja) (Molek s sodel., 2014).

Tarčne molekule, oziroma membranski receptorji so z enim koncem v stiku z zunanjim okoljem celice, z drugim pa s citoplazmo. Ko se na ta receptor veže ustrezna molekula, pride do spremembe v njegovi strukturi, ki se prenese do notranjega dela, kar se kaže na odzivu na molekularnem nivoju.

Če učinkovine posnemajo delovanje naravnih signalnih molekul, govorimo o agonistih, ki se vežejo na receptorje in jih aktivirajo. Kadar pa spojine delujejo nasprotno, govorimo o antagonistih, ki zavirajo signalizacijo naravnih prenašalcev. Obe spojini sta lahko podobni naravnim prenašalcem. Zdravilne učinkovine na živčni sistem delujejo tako, da se vežejo na receptorje za nevrottransmitterje (živčne prenašalce), in s tem sprožijo depolarizacijo na nevronu. V primeru nekovalentne vezave učinkovin na tarčne molekule je obseg vezave vedno odvisen od njene koncentracije, oziroma od deleža zasedenih celičnih receptorjev; več je zasedenih receptorjev, večji je učinek. Torej, večja kot je koncentracija učinkovine, večji bo učinek. Če želimo učinek neke snovi zmanjšati, je pomembno, da ji preprečimo vezavo na receptorje, torej, da receptorje zasedemo z antagonistom, ki preprečujejo vezavo naravnih signalnih molekul. Zato je afiniteta vezave antagonistov na receptorje pomembna (= stopnja medsebojne privlačnosti dveh molekul), kar pomeni, da lahko že pri nizki koncentraciji zasedemo veliko število receptorjev in s tem dosežemo, da je odmerek zdravila ustrezno nizek in sprejemljiv (Molek s sodel., 2014).

Kolikšen delež receptorjev moramo zajeti, da se bo celica maksimalno odzvala na dražljaj, je odvisno od sposobnosti znotrajceličnega ojačenja signala. Pomembno je, ali se neka učinkovina veže na isto mesto receptorja kot endogena snov, in z njo tekmuje za vezavo (govorimo o kompetitivnih agonistih/antagonistih), ali pa preko vezave ojači ali oslabi vezavo endogene snovi (govorimo o nekompetitivnih agonistih/antagonistih). Indirektni agonisti delujejo tako, da zavrejo razgradnjo endogenega prenašalca in na ta način posredno ojačijo njegov učinek. Pomembno je tudi, kako hitro in v kakšnem obsegu snov prispe na mesto delovanja in kako hitro se odstrani.

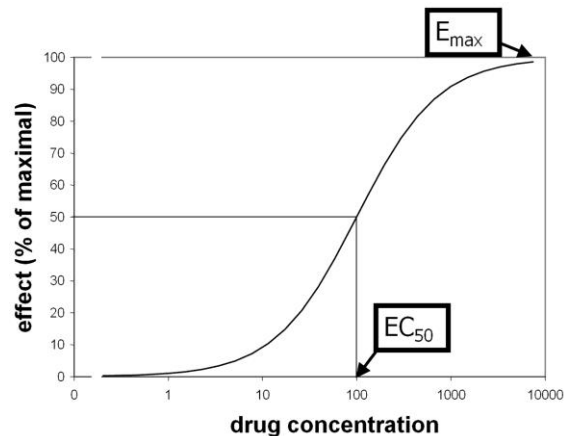
Učinkovitost učinkovine podamo z maksimalnim učinkom ( $E_{MAX}$ ), tj. največjim učinkom, ki ga ne moremo preseči z večanjem koncentracije. Moč pa podamo s srednjo efektivno koncentracijo ( $EC_{50}$ ), oziroma odmerkom ( $ED_{50}$ ), ki je tista koncentracija, ki izzove polovico maksimalnega učinka. Učinkovina z večjim  $E_{MAX}$  je bolj učinkovita, učinkovina z manjšim  $EC_{50}$  pa močnejša. Ko govorimo o zdravilih so torej zaželene učinkovine z večjim maksimalnim učinkom (tudi pri zaviranju nekega procesa), in čim nižjo vrednostjo  $EC_{50}$ . Drugače bi morali za zadovoljiv učinek uporabiti velike odmerke, ki pa niso sprejemljivi z varnostnega ali ekonomskega vidika (Molek s sodel., 2014).

## 2.7 Odnos med koncentracijo in učinkom učinkovine

Z večanjem odmerkov in koncentracij učinkovine se njen učinek na organizem poveča. Vendar pa zveza ni vedno linearna. Odnos med koncentracijo učinkovine in njenim učinkom ponazorimo z diagramom odvisnosti med učinkom in koncentracijo. Krivulja (*angl. dose-response curve*) ima obliko pravokotne hiperbole, ponazarja pa učinek v odvisnosti od koncentracije, ter raste do določene maksimalne vrednosti

(Slika 9). Ker učinek po navadi zajema več velikostnih redov, za prikazovanje odnosa med učinkom in koncentracijo uporabimo diagram z logaritemsko skalo na abscisi. Takrat ima krivulja obliko sigmoide, kar pa je lažje za primerjavo učinkov različnih agonistov in antagonistov, t.j. ko imamo na diagramu več krivulj. Iz obeh diagramov lahko ocenimo  $E_{MAX}$  in  $EC_{50}$  za preiskovano zdravilno učinkovino.  $E_{MAX}$  tako predstavlja navidezno limito, ki se ji približujemo z večanjem koncentracije,  $EC_{50}$  pa je vrednost na abscisi, ki jo seka preslikava polovične vrednosti maksimalnega učinka preko presečišča na krivulji. Za določitev  $EC_{50}$  upoštevamo polovico višine med najvišjim in najnižjim učinkom. (Molek s sodel., 2014).

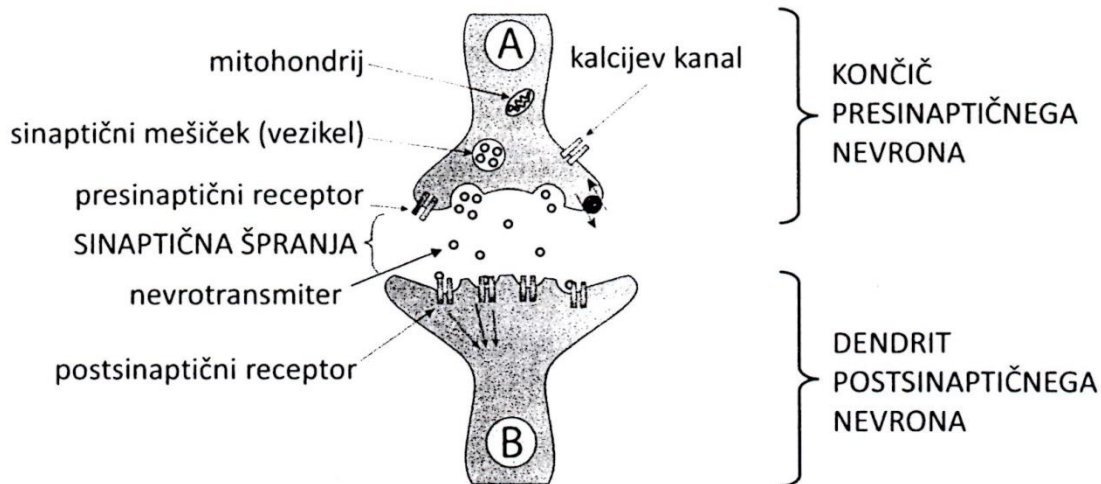
Graf 1: Graf zdravilne učinkovine v odvisnosti od koncentracije ()<sup>13</sup>



## 2.8 Avtonomni živčni sistem

Avtonomni živčni sistem je odgovoren za sprejemanje dražljajev iz okolja, njihovo obdelavo in prenos raznih signalov po organizmu. Celice, ki vršijo prenos signala imenujemo nevroni. Slednji komunicirajo med seboj in z drugimi celicami preko snovi, ki jim pravimo živčni prenašalci, oz. neurotransmiterji. Ti prenašajo signale med nevroni, ter so odgovorni za delovanje večine procesov v našem telesu, kot so dihanje, bitje srca, gibanje, razpoloženje, razmišljanje. Pomembnejši neurotransmiterji so: dopamin, glutamat, acetiholin. Običajno se skladiščijo v mešičkih (veziklih), ki se po depolarizaciji zlijejo s celično membrano in se sprostijo v sinaptično špranjo. Nato z difuzijo dosežejo postsinaptično membrano, kjer se vežejo na receptor ter spodbujajo ali zapirajo postsinaptično celico (Molek s sodel., 2014).

<sup>13</sup> Vir: Black, K., Koller, J.M., Miller, B.D. (2013). Rapid quantitative pharmacodynamic imaging by a novel method: theory, simulation testing and proof of principle. Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.117> (5.2. 2015)



Slika 9: Poenostavljen prikaz kemijske sinapse med dvema nevronoma (Molek s sodel., 2014)

Naloga nevrottransmitterjev je uravnavanje skoraj vseh človeških psihičnih in čustvenih procesov. Motnje prenašanja signalov so po navadi posledica neuravnoveženega delovanja nevrottransmitterjev, kot posledica neustrezne sinteze, sproščanja ali vezave na receptorje. To se kaže kot bolezensko stanje.

Avtonomni (vegetativni) živčni sistem uravnava najbolj osnovne življenjske funkcije (bitje srca, prehodnost dihalnih poti, krvni tlak, itd.), deluje samodejno; izjema sta okus in vonj. Po funkciji ga delimo na simpatično in parasimpatično živčevje, ki na iste organe delujeta nasprotno, čemur pravimo fiziološki antagonizem. Tako npr. simpatično živčevje pospešuje bitje srca, parasimpatično pa upočasnjuje.

Zdravilne učinkovine z delovanjem na avtonomno živčevje lahko delujejo tako, da posnemajo nevrottransmitterje, in se vežejo na njihove specifične receptorje na celicah tarčnega organa – v takšnem primeru govorimo o direktnih agonistih in antagonistih. Veliko učinkovin pa na posreden način okrepi ali oslabi prenos signala, pri čemer vplivajo na različne procese, kot je npr. odstranjevanje nevrottransmitterja. Po sprostitvi nevrottransmitterja v sinaptično špranjo se mora slednji hitro in učinkovito odstraniti, da ne pride do prekomerne depolarizacije, ki lahko vodi tudi do paralize oživčenega organa (Molek s sodel., 2014).

Na pravilno delovanje nevrottransmitterjev vplivajo tudi droge, kofein, nikotin, alkohol in sladkorji (Ankram, 2008).

## 2.9 Ionski kanali pri živčnih in mišičnih celicah

Razlike v razporeditvi kationov ob membrani v notranjosti in zunanosti celice so eden izmed osnovnih pogojev za preživetje celice. Mišične celice imajo sposobnost depolarizacije membrane zaradi odprtja specifičnih ionskih kanalov ob ustreznem dražljaju. V mišičnih celicah tako po odprtju kalijevih in natrijevih kanalov sledi tudi odprtje kalcijevih kanalov, zaradi česar  $Ca^{2+}$  ioni vdrejo v citoplazmo, kar pa v končni fazi povzroči drsenje filamentov, in s tem mišično kontrakcijo (Molek s sodel., 2014).



## 2.10 Senzorično zaznavanje in okus

Ker v vsakem trenutku dobivamo nešteto različnih dražljajev, ljudje za njihovo sprejemanje in kasneje pretvorbo v živčne impulze uporabljamo specializirane mehanizme. Ti se po dovodnem živčnem vlaknu prenesejo do središča osrednjega živčevja, kjer se informacije oz. impulzi predelajo, da jih lahko zavestno zaznamo.

Okus je eden od sprejemnih mehanizmov in ga uvrščamo med kemoreceptorje. Ti receptorji so na jeziku, mehkem nebu, v žrelu in v grlu. Imajo receptorske celice, ki so nameščene v brbončicah. Okus sestavljajo občutki, ki jih zaznajo okušalni organi, ki jih spodbudijo določene topne snovi.

Poznamo le 5 različnih funkcionalnih tipov okušalnih senzoričnih celic, ki imajo receptorske proteine za okus. Z njimi lahko zaznamo osnovne okuse: sladko, kislo, slano, grenko in umami<sup>14</sup>, obstajajo pa še kovinski, električni in lužnat okus. Okušalne mešičke naj bi sestavljali različni tipi teh celic, vendar večinoma prevladuje le ena vrsta.

Okušalne receptorske celice so razporejene v okušalnih brstičih, ki se nahajajo v specializiranih papilah sluznice jezika. Sprednji dve tretjini jezika pokrivajo gobaste papile, ki zaznavajo predvsem sladek in slan okus, oživčuje pa jih VII. možganski živec. Zadnja tretjina jezika je pokrita z otočkastimi in listastimi papilami, ki so občutljive za kisel in grenak okus, oživčuje pa jih IX. možganski živec. Zadnjo stran grla in epiglotis oživčuje X. možganski živec.

Različni okusi nastanejo z kombinacijo glavnih štirih, torej iz grenkega, sladkega, slanega in kislega. Snovi, ki jih okušamo, se vežejo na receptorje na membrani receptorskih celic in po različnih mehanizmih sprožijo depolarizacijo oz. receptorski potencial. Nato preko možganskih živcev, ki jih prenašajo, vstopijo v podaljšano hrbtenjačo, v jedro talamusa in v okušalni korteks. V sluznici ustne votline lahko zaradi V. možganskega živca zaznavamo tudi občutke kot so pekoče, ostro, vroče, začinjeno.

Pogoj, da lahko molekule sploh pridejo v stik z okušalnimi celicami in posledično zaznava okusa je topnost posameznih snovi ali molekul v vodi oz. slini. Zmožnosti okušanja in število okušalnih celic se s starostjo manjša (Boyer s sodel., 2008.)

## 2.11 Vodne bolhe (*Daphnia magna*)

Vodne bolhe (*Daphnia Magna*) so poseben red planktonskih rakov, ki naseljujejo sladkovodne ekosisteme. So pomemben vir hrane v vodnih ekosistemih. Prehranjujejo se s filtracijo vode, pri čemer lovijo mikroskopsko majhne delce, večinoma planktonske organizme. Od njihove prevladujoče hrane je odvisna tudi njihova barva. Kadar so zelene alge v izobilju, so vodne bolhe svetlo zelenega odtenka. Za prenos kisika po obtoku služi hemoglobin, ki je zunajceličen, torej prosto raztopljen v hemolimfi. Njegova koncentracija je odvisna od raztopljenega kisika v okolju, kar pomeni, da se ob hipoksičnih pogojih izražanje hemoglobina poveča do 20-krat, kar opazimo kot izrazito rdeče obarvanost vodnih bolh (Molek s sodel., 2014). Večino leta se razmnožujejo nespolno, tako da do pojava samcev v populaciji in posledičnega spolnega razmnoževanja pride le ob neugodnih razmerah, čemur pravimo ciklična partenogeneza. Gre za vrsto nespolnega razmnoževanja, pri katerem se zarodek izvije iz neoplojenega jajčeca, ki vsebuje ves genetski material od matere. Partenogenetska jajčeca so diploidna, iz njih se razvijejo samci ali samice,

---

<sup>14</sup> Sama beseda izhaja iz japonske besede za okusnost- - mesni okus. Zanj je odgovorna glutaminska kislina.

medtem, ko so jajčeca spolnega razmnoževanja pred oploditvijo haploidna (Molek s sodel., 2014). *Daphnia magna* (velika vodna bolha) ima oklep iz hitina, ki ni kalciniran. Ima odprti krvni obtok, po katerem se pretaka hemolimfa. Njena telesna temperatura je odvisna od temperature okolja, v kateri se nahajajo. Imajo odprti krvni obtok, ki se nahaja v zgornjem hrbtnem delu, in po katerem se pretaka hemolimfa. V njej je prosto raztopljen hemoglobin, ki prenaša kisik po obtoku. Njena telesna temperatura je odvisna od temperature okolja, v katerem se nahaja. Zrastejo od 0,5 do nekaj mm, pri čemer so samice večje od samcev. Imajo 5 ali 6 parov okončin, ki se nahajajo vzdolž prsnega dela telesa ter služijo prehranjevanju in dihanju. Na koncu trebuha se nahaja par majhnih kleščic. V spodnjem hrbtnem delu imajo poseben prostor za odlaganje jajčec imenovan valilnik, kjer se iz neoplojenih jajčec izvalijo potomci. So prosojne, zato lahko pod mikroskopom opazujemo bitje srca, prehranjevanje, premikanje očes in druge funkcije. Pri sobni temperaturi imajo vodne bolhe približno 200 utripov srca na minuto. Sprememba frekvence je lahko odvisna od spremembe temperature ali raznih kemijskih dejavnikov (Molek s sodel., 2014).



Slika 10: Vodna bolha (*Daphnia magna*) (<http://en.wikipedia.org/wiki/Daphnia>, povzeto dne 3.2.2015)

### 2.11.1 Določitev hitrosti bitja srca vodnih bolh

Veliko snovi delujejo tako, da pospešijo bitje srca in povečajo njegovo moč, povečajo krvni tlak, itd. Snovi, ki pospešijo oz. krepijo funkcijo živčevja ali mišic, imenujemo stimulanse. Depresorji so snovi, ki zmanjšujejo aktivnost živčevja, upočasnjujejo bitje srca in znižujejo krvni tlak. Vodne bolhe so zaradi podobnega avtonomnega živčevja, ki uravnava hitrost bitja srca, primeren organizem za določanje snovi med stimulanse ali depresorje, torej so odlični modelni organizem za ugotavljanje učinkov, ki bi jih preučevane snovi utegnile imeti na človeški organizem (Molek s sodel., 2014). Slednje lahko na bitje srca vplivajo preko avtonomnega živčevja, direktnih učinkov na srčne celice, ali pa so same po sebi strupene za srčno mišico. Zaradi hitrega razmnoževanja in enostavnega gojenja lahko vodne bolhe uporabimo tudi kot indikator onesnaženosti (Molek s sodel., 2014).

Pri določitvi bitja srca vodnih bolh opazujemo vpliv raztopine snovi na frekvenco bitja srca vodnih bolh. Zaradi velikih razlik v bazalnih frekvencah bitja srca, spremljamo relativne učinke na hitrost bitja srca glede na začetno frekvenco, in jih izrazimo kot odstotek začetne frekvence bitja srca (Molek s sodel., 2014).

### 3.0 EKSPERIMENTALNO DELO

Velike vodne bolhe (*Daphina magna*) za izvedbo poskusa, sva dobili na Zavodu za zdravstveno varstvo (ZZV) v Mariboru. Uporabili sva bolhe primerljivih velikosti (0,2 mm) in s tem tudi starosti. Pri tem sva pazili, da so bile vse enako obarvane (čim bolj svetle in prosojne), saj je barva tesno povezana z optimalnimi življenjskimi pogoji za njihovo rast in razmnoževanje.<sup>15</sup>

### 3.1 Merjenje utripa srca vodnih bolh v raztopinah naravnih in umetnih sladil – 1. del

#### 3.1.1 Materiali in oprema

Laboratorijska oprema:

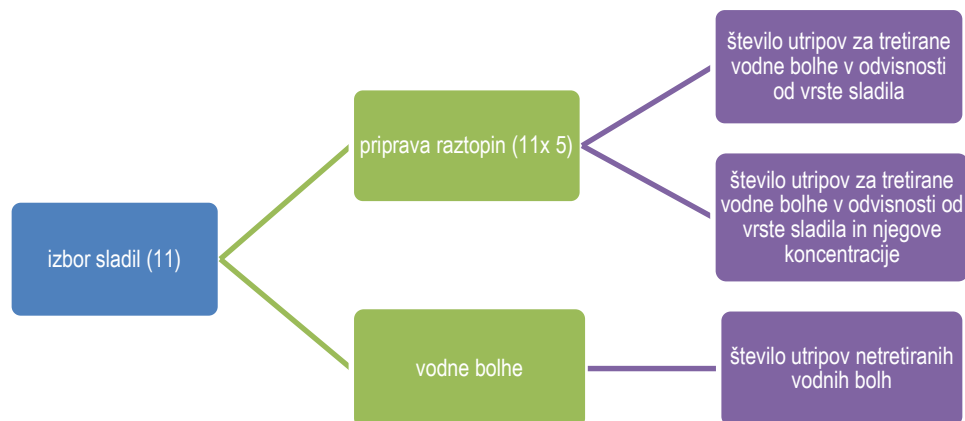
- Čaše (10ml, 100ml)
- Kern analista tehtnica ( $\pm 0,0001$ )
- Kern analitska tehtnica ( $\pm 0,00001$ )
- Pipeta (20mL)
- Pasteurjeva kapalka
- Hanhart Stratos štoparica ( $\pm 0,01$  s).
- Monokularni mikroskop Kolleg (pri 400-kratni povečavi)
- Objektna stekelca z vdolbino (0,4 mL)
- Raztopine naravnih in umetnih sladil (0,55 g/L, 2,75 g/L, 5,50 g/L, 55,0 g/L in 110,00 g/L)



Slika 11: Pripravljene raztopine (lasten vir, 5.11.2014)

---

<sup>15</sup> Ob hipoksičnih pogojih se izražanje hemoglobina v vodni bolhi poveča do 20-krat, kar opazimo kot izrazito rdeče obarvanost vodnih bolh. Bolhe smo hranili z raztopino zelene alge Spiruline.



Organigram 1: Predstavitev laboratorijskega dela (1. del)

Preglednica 2: Naravna in umetna sladila, uporabljena v raziskovalni nalogi

Sladilo	Čistoča/Proizvajalec	Aktivna učinkovina
<b>Glukoza</b>	D-(-) glukoza (za biokemijo in mikrobiologijo) – $C_6H_{12}O_6$ (Proizvajalec - Kemika Zagreb)	Glukoza
<b>Fruktoza</b>	D- (-) fruktoza (za biokemijo in mikrobiologijo) – $C_6H_{12}O_6$ (Proizvajalec - Kemika Zagreb)	Fruktoza
<b>Maltoza</b>	Maltoza – monohidrat (za mikrobiologijo) - $C_{12}H_{22}O_{11} \times H_2O$ (Proizvajalec - Kemika Zagreb)	Maltoza (disahrid iz glukoze)
<b>Saharoza</b>	Saharoza (p.a.) - $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Proizvajalec - Kemika Zagreb)	Saharoza (disaharid iz glukoze in fruktoze)
<b>Cvetlični med</b>	Proizvajalec - Medex	Mešanica mono-, di- in tri-saharidov ter laktonov
<b>Gozdni med</b>	Proizvajalec - čebelarstvo Kapun	Mešanica mono-, di- in tri-saharidov ter laktonov
<b>Javorjev sirup</b>	Proizvajalec - Granovita	Mešanica sladkorjev in mineralnih snovi
<b>Rjavi sladkor</b>	Proizvajalec – Wiener Zucker	Kuhinjski sladkor
<b>Stevia</b>	Proizvajalec - Krüger	Steviol (glikozid)
<b>Natreen</b>	Proizvajalec – Sara Lee Corporation	Aspartam
<b>Huxol</b>	Proizvajalec - Veelmann Avstrija	Ciklamat

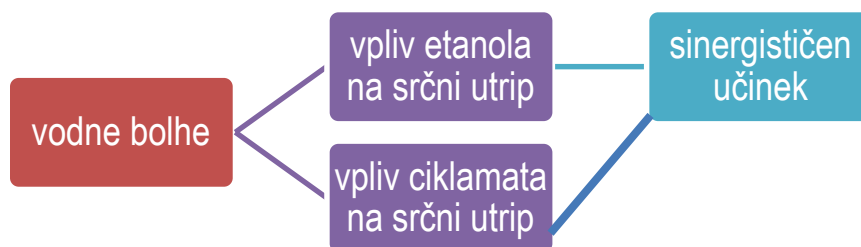
### 3.1.2 Laboratorijsko delo – 1. del

Z 2-krat deionizirano vodo smo pripravili raztopine dveh monosaharidov (glukoza in fruktoza), dveh disaharidov (maltoza in saharoza), dveh vrst medu (cvetlični in gozdni), dveh sladkornih raztopin, ki jih priporočajo nutricionisti (javorjev sirup in rjavi sladkor), ter tri raztopine umetnih sladil, ki so UR RS št. 43 (2004) dovoljene pri pripravi živil in najbolj prodajana umetna sladila (Statistični urad RS, 2013). Za vsako sladilo je bilo pripravljenih pet koncentracij: 0,55 g/L, 2,75 g/L, 5,50 g/L, 55,0 g/L in 110,00 g/L.

Hitrost bitja smo opazovali s pomočjo monokularnega mikroskopa Kolleg pri srednji povečavi (400x). Za opazovanje vodnih bolh smo uporabili objektna stekelca z vdolbino 0,4 mL. Najprej sva se izurili v štetju srčnih utripov vodnih bolh, ki niso bile izpostavljene sladilom ter primernim načinom beleženja rezultatov. Ker je srčni utrip vodnih bolh zelo hiter, smo uporabili metodo beleženja s »tapkanjem« (ob gledanju v mikroskop smo s kemičnim svinčnikom istočasno delali pike na list papirja, ki smo jih nato prešteli).

Sledilo je štetje srčnih utripov vodnih bolh, izpostavljenim različnim raztopin sladil in sladkorjev. S Pasteurjevo kapalko smo na objektno stekelce položili vodno bolho ter ji dodali nekaj kapljic pripravljene raztopine. Bolhe smo nato v tej raztopini, z namenom prilagoditve na novo okolje, pustili točno tri minute. Iz objektnih stekel smo nato s papirnato brisačo popivnali odvečno tekočino in objektna stekla položili pod 400-kratno povečavo mikroskopa. Meritve srčnega utripa so potekale 10 sekund, takoj za tem smo bolhe vrnili v njihovo običajno okolje. Vsako meritev smo izvajali 3x in na tej osnovi izračunali poprečni srčni utrip ter standardno deviacijo.

### 3.2 Merjenje utripa srca vodnih bolh v raztopinah ciklamata v kombinaciji z etanolom ali destilirano vodo – 2. del



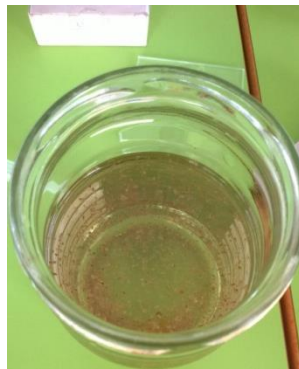
Organigram 2: Predstavitev laboratorijskega dela (2. del)

### 3.2.1 Laboratorijsko delo – 2. del

Pri eksperimentu z etanolom smo uporabili etanol (100%, Sigma-Aldrich). Pripravili smo 4,3% raztopino etanola in  $10^{-3}$ M raztopino ciklamata (E952). Izvedli smo 7 različnih poskusov z različnimi kombinacijami etanola in ciklamata (Preglednica 3). Podobno kot v prvem delu poskusa, smo tudi v teh raztopinah, vodne bolhe pustile za tri minute v posameznih kombinacijah raztopin, ter jim nato izmerili srčni utrip.

Preglednica 3: Raztopine etanola in ciklamata uporabljene v drugem delu naloge

Poskus	Etanol	Ciklamat
1	5 mL	0 mL
2	4 mL	1 mL
3	3 mL	2 mL
4	2,5 mL	2,5 mL
5	2 mL	3 mL
6	1 mL	4 mL
7	0 mL	5 mL



Slika 12: Vodne bolhe (*Daphnia magna*) (lasten vir, 5.11.2014)

## 4.0 REZULTATI IN DISKUSIJA

### 4.1 Rezultati merjenja srčnega utripa vodnih bolh v raztopinah različnih koncentracij preiskovanih snovi

Za vse meritve smo izračunali povprečje utripov v danih pogojih in standardni odklon.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}}$$

kjer je  $x_i$  i-ta enota v statistični populaciji,  $\bar{x}$  aritmetična sredina populacije,  $N$  pa število vseh enot.

Na začetku smo se izurili v štetju srčnih utripov pod mikroskopom. Nato smo določili srčni utrip vodnih bolh v njihovem naravnem okolju, torej njihov normalen srčni utrip. Rezultati so bili naslednji:

Preglednica 4: Srčni utrip netretiranih vodnih bolh

Utrip srca v 10s	Povprečje	Standardni odklon
27	27	0,03
27		
28		

Preglednica 5: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine saharoze

Koncentracija saharoze g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	58	56	1,70	2,0
	55			
	54			
2,75	45	47	1,70	1,7
	46			
	49			
5,50	61	60	1,41	2,2
	61			
	58			
55,00	59	57	1,70	2,1
	56			
	55			
110,00	46	47	1,70	1,7
	45			
	49			



Saharoza, v koncentraciji 0,55 g/L, je povzročila dvakratno povečanje srčnega utripa pri vodnih bolhah. Pri višjih koncentracijah saharoze se ti niso bistveno spreminjali, saj so utripi nihali med 47 in 60 utripov/10 sekund. Frekvenca povečanja utripov je bila med 1,7 do 2,2 (pri 5,50 g/L).

Preglednica 6: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine maltoze

Koncentracija maltoze g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	49	49	5,31	1,8
	56			
	43			
2,75	46	49	2,16	1,8
	51			
	50			
5,50	48	50	1,50	1,8
	51			
	24 <sup>16</sup>			
55,00	51	50	4,19	1,8
	44			
	54			
110,00	39 <sup>17</sup>	51	1,00	1,9
	50			
	52			

Srčni utrip se je pri koncentraciji maltoze 0,55 g/L povečal za 1,8-krat. Nadaljnji dvig koncentracij maltoze ni imel več učinka na povečanje srčnega utripa. Maltoza je disaharid sestavljen iz samih glukoznih molekul. V primerjavi s saharozo, ki jo sestavljata glukoza in fruktoza, ugotavljamo, da ima saharoza večji stimulativen učinek.

<sup>16</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>17</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 7: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine rjavega sladkorja

Koncentracija rjavega sladkorja g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	50 <sup>18</sup>	60	2,00	2,2
	58			
	62			
2,75	63 <sup>19</sup>	54	0,50	2,0
	53			
	54			
5,50	51	49	2,62	1,8
	50			
	45			
55,00	60	52	6,24	1,9
	50			
	45			
110,00	65	65	0,00	2,4
	53 <sup>20</sup>			
	65			

Pri rjavem sladkorju lahko opazimo najvišji porast v številu srčnih utripov med vsemi preučevanimi sladili, to je 2,4 –kratno povečanje koncentraciji 110,0g/L- Pričakovali smo, da bodo rezultati zelo primerljivi s tistimi pri saharozi, vendar ugotavljamo, da je raztopina rjavega sladkorja povzročila večji učinek.

<sup>18</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>19</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>20</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 8: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine glukoze

Koncentracija glukoze g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	39	42	2,49	1,5
	45			
	43			
2,75	36	45	6,48	1,7
	51			
	48			
5,50	48	49	0,94	1,8
	50			
	48			
55,00	51	47	2,94	1,7
	44			
	46			
110,00	49	51	2,00	1,9
	43 <sup>21</sup>			
	53			

Pri koncentraciji 0,55 g/L smo opazili 1,5-kratno povečanje srčnega utripa, pri čemer opazimo rahel dvig števila utripov pri vseh koncentracijah, vendar je tudi standardni odklon velik. Primerjava z maltozo (disaharidom) pokaže zelo podoben oz. primerljiv učinek.

<sup>21</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu povprečja in standardnega odklona.

Preglednica 9: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine fruktoze

Koncentracija fruktoze g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	43	47	2,62	1,7
	48			
	49			
2,75	62	60	2,00	2,2
	50 <sup>22</sup>			
	58			
5,50	47	51	2,94	1,9
	54			
	52			
55,00	42	42	0,50	1,5
	41			
	60 <sup>23</sup>			
110,00	47	44	2,49	1,6
	41			
	43			

Pri 0,55 g/L koncentraciji fruktoze je bilo število srčnih utripov 1,7-krat povečano. Nato lahko opazimo 2,2-kratno povečanje števila srčnih utripov v primerjavi z netretriranimi bolhami. Vendar se pri višji koncentraciji število srčnih utripov zniža. Primerjava glukoze in fruktoze kaže, da imata obe primerljiv učinek, izjema je koncentracijsko območje okoli 2,75 g/L. Obe, tako glukoza kot fruktoza pa imata nižji stimulativen učinek kot saharoza.

<sup>22</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>23</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 10: Srčni utripi vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine cvetličnega medu

Koncentracija cvetličnega medu g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	50	49	2,62	1,8
	51			
	45			
2,75	51	50	1,25	1,8
	50			
	48			
5,50	57	56	4,11	2,1
	61			
	51			
55,00	63	60	3,00	2,2
	57			
	28 <sup>24</sup>			
110,00	42	42	2,87	1,5
	38			
	45			

Pri cvetličnem medu opazimo največjo stimulatívno vrednost pri koncentraciji 55,00 g/L. Srčni utripi se povečajo za 2,2-krat, pri najvišji koncentraciji, torej 110,00 g/L pa se število utripov zniža na 1,5-krat.

<sup>24</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 11: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine gozdnega medu

Koncentracija gozdnega medu g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	47	48	0,94	1,8
	49			
	47			
2,75	43	45	2,00	1,7
	47			
	54 <sup>25</sup>			
5,50	52	53	1,41	2,0
	52			
	55			
55,00	55	55	0,47	2,0
	55			
	56			
110,00	47	46	1,70	1,7
	44			
	48			

Pri gozdnem medu lahko opazimo nekoliko nižje povišanje srčnega utripa, v primerjavi s cvetličnim, vendar podoben trend . Najvišja vrednost srčnih utripov je pri koncentracijah 55,00 g/L, najnižja pa pri koncentracijah 110,00 g/L. V povprečju izmerimo kar 2-krat višje vrednosti kot netretiranih vodnih bolhah.

<sup>25</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 12: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Stevie

Koncentracija stevie g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	37	37	0,00	1,4
	37			
	37			
2,75	44 <sup>26</sup>	57	1,00	2,1
	58			
	56			
5,50	59	59	0,47	2,2
	59			
	58			
55,00	53	53	0,00	2,0
	68 <sup>27</sup>			
	53			
110,00	46	47	0,82	1,7
	48			
	47			

Pri Stevii lahko pri koncentraciji 0,55 g/L opazimo le 1,3-kratno povečanje števila srčnih utripov. Le-ti z višanjem koncentracije naraščajo. Najvišjo vrednost števila srčnih utripov opazimo pri koncentraciji 5,50 g/L, nato pa število le-teh začne upadati.

<sup>26</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>27</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 13: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Natreena

Koncentracija Natreena g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	49	49	0,47	1,8
	49			
	48			
2,75	50	50	0,00	1,8
	50			
	40 <sup>28</sup>			
5,50	51	47	2,87	1,7
	47			
	44			
55,00	47	47	0,00	1,7
	47			
	47			
110,00	44	40	4,50	1,5
	65 <sup>29</sup>			
	35			

Natreen, z aktivno učinkovino aspartam, je bilo edino sladilo, ki ni v nobeni od preučevanih koncentracij povzročilo več kot 1,8-kratnega povišanja števila srčnih utripov. Višanje koncentracije do 55g/L je povzročilo zelo primerljive učinke, porast koncentracije na 110,00 g/L je število srčnih utripov zmanjšal.

<sup>28</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>29</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.



Preglednica 14: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine Huxola

Koncentracija Huxola g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	36 <sup>30</sup>	55	1,50	2,0
	56			
	53			
2,75	38 <sup>31</sup>	60	0,50	2,2
	60			
	59			
5,50	49 <sup>32</sup>	63	1,50	2,3
	61			
	64			
55,00	34	36	0,00	1,3
	37			
	37			
110,00	33	37	0,00	1,4
	39			
	39			

Pri Huxolu je aktivna učinkovina ciklamat. Tukaj smo že pri koncentraciji 0,55 g/L zabeležili izjemno visoko število srčnih utripov, saj so se ti povišali kar 2-krat. Le-ti so se do koncentracije 5,50 g/L še poviševali, nato pa pri koncentraciji 55,00 g/L padli na 1,3 do 1,4- kratnik povečanja.

Učinek Huxola in Natreena je pri najvišjih koncentracijah (110,0g/L) podoben. Zabeležili smo najnižje vrednosti povečanja srčnega utripa.

<sup>30</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>31</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>32</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 15: Srčni utrip vodnih bolh v različnih koncentracijah raztopine javorjevega sirupa

Koncentracija javorjevega sirupa g/L	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
0,55	44	48	3,27	1,8
	52			
	48			
2,75	59	56	2,16	2,1
	55			
	54			
5,50	53	53	0,00	2,0
	53			
	64 <sup>33</sup>			
55,00	49	49	0,47	1,8
	49			
	50			
110,00	69 <sup>34</sup>	53	2,50	2,0
	50			
	55			

Pri javorjevem sirupu se je število srčnih utripov povišalo od 1,8-krat do 2,1-krat, kar je primerljivo s trendom, ki smo ga zabeležili pri obeh vrstah medu.

## 4.2 Rezultati merjenja srčnega utripa vodnih bolh v raztopini etanola in ciklamata

Preglednica 16: Srčni utrip netretiranih vodnih bolh

Utrip srca v 10s	Povprečje	Standardni odklon
29	29	0,47
29		
30		

<sup>33</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>34</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

Preglednica 17: Srčni utrip vodne bolhe v odvisnosti od razmerja ciklamata in etanola

Etanol 4,3 vol. %	Raztopina 0,001 M ciklamata	Utripi v 10s	Povprečje	Standardni odklon	Frekvenca povečanja utripa
5 mL	0 mL	19 <sup>35</sup>	27	0,00	0,93
		27			
		27			
4mL	1 mL	22 <sup>36</sup>	39	6,00	1,3
		33			
		45			
3mL	2 mL	31	33	2,00	1,1
		35			
		66 <sup>37</sup>			
2,5 mL	2,5 mL	24	23	1,25	0,8
		23			
		21			
2 mL	3mL	55	52	2,16	1,8
		50			
		51			
1 mL	4mL	49	48	1,41	1,7
		46			
		49			
0 mL	5 mL	45	52	6,16	1,8
		51			
		60			

4,3 % raztopina etanola je zmanjšala število utripov za 7%. Pri dodanem 1mL 0,001M raztopine ciklamata se je srčni utrip povišal v območje netretiranih vodnih bolh. Utrip je sicer nekoliko višji, vendar je standardni odklon visok in zato zanesljivost meritev manjša. V primeru enakih prostornih etanola in ciklamata, se je srčni utrip zmanjšal na najnižjo vrednost (20% nižje kot netretirane vodne bolhe). Kakor hitro je ciklamat v presežku, frekvenca srčnih utripov skokovito naraste in sovпада z rezultati, ki smo jih zabeležili pri nizkih koncentracijah Huxola.

<sup>35</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

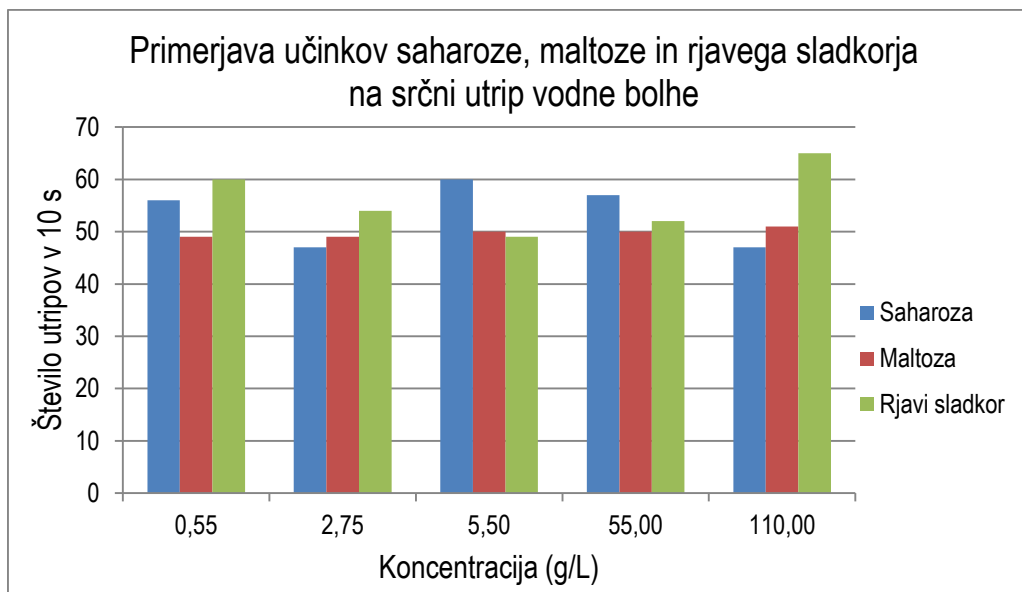
<sup>36</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

<sup>37</sup> Zaradi prevelikega odstopanja, te meritve nismo uporabili v izračunu standardnega odklona in povprečja.

## 5.0 RAZPRAVA

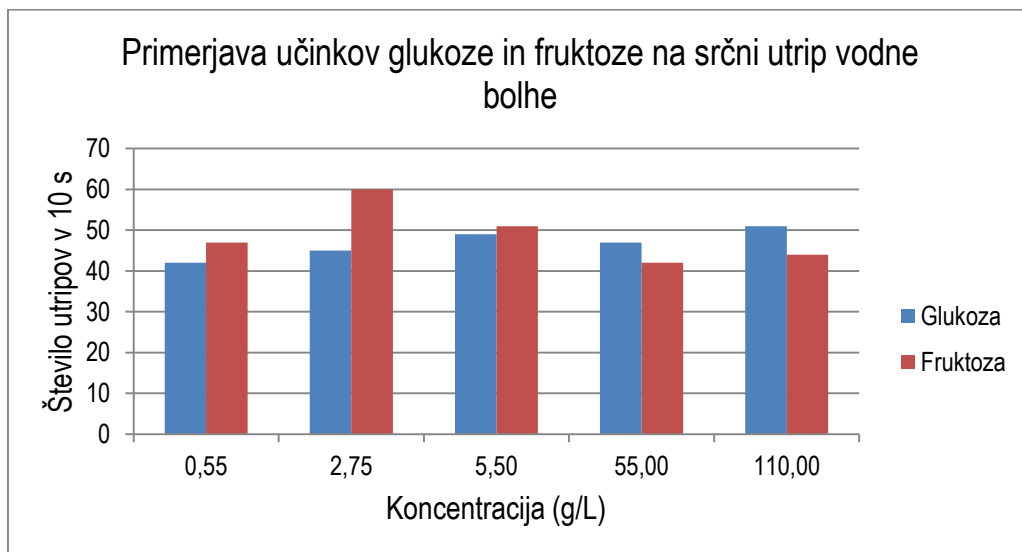
### 5.1 Primerjava učinkov sladil na srčni utrip vodne bolhe glede na njihov izvor/sestavo

Graf 2: Primerjava učinkov saharoze, maltoze in rjavega sladkorja na srčni utrip vodne bolhe



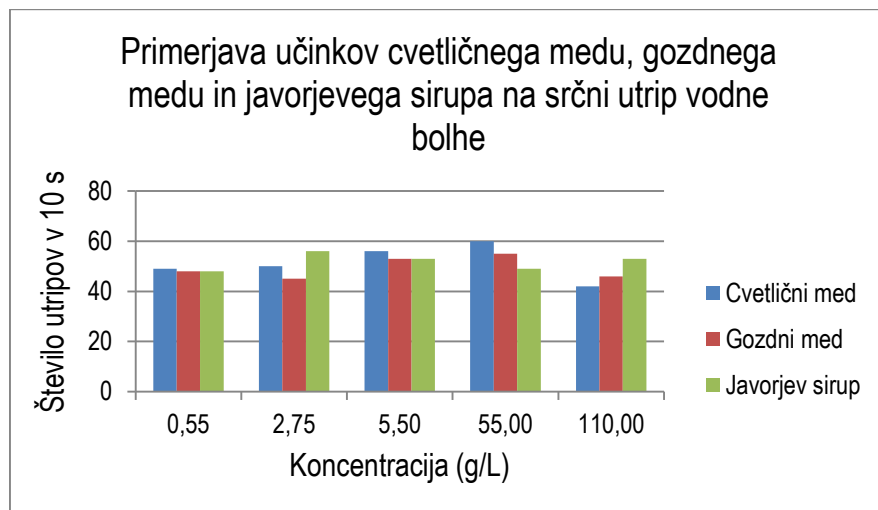
Primerjali sva učinke dveh disaharidov, saharoze (v obliki belega in rjavega sladkorja) in maltoze. Iz grafa 2 vidimo, da ima rjavi sladkor pri vseh preučevanih koncentracijah, z izjemo 5,50g/L in 55,0g/L, praviloma najvišje vrednosti, maltoza pa se giblje med obema saharozama. Pri rjavem sladkorju  $E_{MAX}$  nismo določili, pri čisti saharozi je bil  $E_{MAX}$  pri koncentraciji 5,50 g/L.

Graf 3: Primerjava učinkov glukoze in fruktoze na srčni utrip vodne bolhe



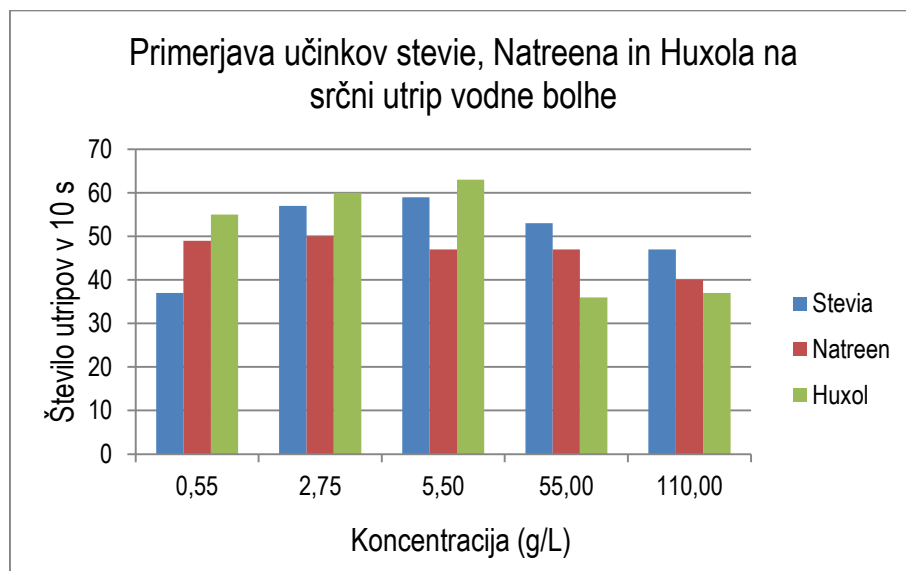
Primerjava glukoze in fruktoze kaže, da ima fruktoza večji učinek pri nižjih koncentracijah (med 0,55 do 5,5g/L), glukoza pa pri višjih koncentracijah (55,0 in 110,0g/L).

Graf 4: Primerjava učinkov cvetličnega medu, gozdnega medu in javorjevega sirupa na srčni utrip vodne bolhe



Cvetlični med sva primerjali z gozdnim medom in javorjevim sirupom, torej sladila, ki so naravnega izvora in najmanj tehnološko predelana sladila v vsakdanji uporabi. Pri obeh vrstah medu je bila  $E_{MAX}$  določena pri koncentraciji 55,00 g/L, kar predstavlja 10-krat višjo koncentracijo kot pri čistih disaharidih. Javorjev sirup je  $E_{MAX}$  dosegel pri koncentraciji 2,57g/L in v poprečju nekoliko nižje vrednosti povišanih srčnih utripov. Javorjevega sirupa ne moremo primerjati z vrstama medu, saj je pri sirupu vidno nihanje med koncentracijami, pri medu pa vrednost narašča do koncentracije 55,00 g/L, potem pa hitro pade pri koncentraciji 110,00 g/L.

Graf 5: Primerjava učinkov Stevie, Natreena in Huxola na srčni utrip vodne bolhe



Primerjava učinkov umetnih sladil, Natreena (aspartama) in Huxola (ciklamata) ter Stevie, ki je naravni ekstrakt, pokaže, da ima Stevia pri nizkih koncentracijah minimalni učinek, najmočnejšega pa Huxol. Njegov učinek narašča do koncentracije 5,50 g/L in se nato drastično zmanjša. Zmanjšanje opazimo tudi pri ostalih dveh sladilih, vendar je Stevia tudi pri najvišji koncentraciji še vedno učinkovita i kaže učinek, ki ga imata Huxol in Natreen pri najnižji koncentraciji (0,55g/L).  $E_{MAX}$  za Stevio je pri 5,50 g/L (kot pri saharozi). Umetni sladili se med seboj razlikujeta, saj je pri Natreenu nihanje mnogo manjše kot pri Huxolu, in tudi povprečno število povišanih utripov je manjše.

## 5.2 Srčni utrip vodnih bolh v raztopini etanola in ciklamata

Depresorji in stimulanse skupaj so z raziskovalnega vidika zanimiva kombinacija. Študije navajajo, da kombinacija alkohola in aspartama hitreje poveča nivo alkohola v krvi, kot pa alkohol v kombinaciji s saharozo (Henkel, 1999). V dostopni literaturi nismo zasledili preučevanje sinergističnih učinkov ciklamata in alkohola. Dejstvo je, da je ciklamat dobro topen v vodi, vendar mnogo slabše v etanolu. Slednje omogoča, da bi lahko ocenili potencialni učinek različnih koncentracij alkohola in ciklamata na živčni sistem vodnih bolh tako, da merimo število srčnih utripov vodne bolhe v etanolu ter skupaj z različnimi kombinacijami ciklamata. Ugotovili smo, da 4,3% raztopina etanola zniža povprečno število srčnih utripov za okoli 10%, čista raztopina 0,001M ciklamata pa jih zviša za kar 162%. Kombinacija obeh v razmerju 1:1 zniža povprečno število utripov za 30%. V kolikor je v presežku etanol se število utripov giblje okoli običajne vrednosti netretiranih vodnih bolh, če je v presežku ciklamat pa se število utripov hitro poveča preko 100%. Iz tega sklepamo, da ciklamat lahko vpliva na delovanje etanola in tudi etanol na delovanje ciklamata, oz. da sinergistični učinki obeh snovi ne predstavljajo le njun seštevek. Ciklamat deluje na iste nevrotansmitorje v telesu kot alkohol, le metabolizem obeh snovi je drugačen.

## 6.0 ZAKLJUČKI

Osnovni cilj raziskovalne naloge je bil ugotoviti, kako naravna in umetna sladila v različnih koncentracijah ali v kombinaciji z etanolom vplivajo na srčni utrip vodnih bolh. Vodne bolhe so zaradi avtonomnega živčevja, ki uravnava hitrost bitja srca, odličen modelni organizem za ugotavljanje učinkov, ki bi jih preučevane snovi utegnile imeti na človeški organizem. V nalogi smo preučevali naravna sladila (dve vrsti medu, javorjev sirup, glukozo, fruktozo, beli sladkor (saharoza) in rjavi sladkor (saharoza) ter tri alternativna sladila: Stevia, Natreen in Huxol. Slednja vsebujeta aspartam in ciklamat.

Na osnovi dobljenih rezultatov lahko potrdimo prvo hipotezo, ki pravi, da so sladkorji stimulansi kakor tudi vsa preučevana umetna sladila. Saharoza povzroči sproščanje serotonina in dopamina in dvig ravni glukoze v krvi, kar poveča srčni utrip.

Druga hipoteza, ki smo jo postavili pravi, da so umetna sladila v enakih koncentracijah kot naravna sladila boljši stimulansi (srčni utrip vodnih bolh bo višji), ker so nekajkrat slajša kot naravna sladila. To hipotezo smo delno potrdili, saj je aspartam (Natreen)  $E_{MAX}$  dosegel že pri najnižji preučevani koncentraciji (0,55 g/L), kar ne velja za ciklamat, ki je primerljiv s saharozo.

V raziskavi nismo potrdili hipoteze št. 3, ki pravi, da je učinek preučevanih naravnih in umetnih sladil odvisen od koncentracije snovi - višja kot je koncentracija sladila, hitrejši je utrip vodne bolhe. Samo pri maltozi in glukozni se je ta hipoteza v obsegu preučevanih koncentracij izkazala za pravilno, pri vseh ostalih sladilih smo ugotovili, da je najvišja preučevana koncentracija (110,0g/L) v primerjavi z nižjimi koncentracijami ne povzroča več kontinuiranega povečevanja utripov. Pri saharozi, javorjevem sirupu in Natreenu zaradi nihanj med posameznimi meritvi ni bilo mogoče postaviti zaključkov glede vpliva koncentracije, pri vseh ostalih sladilih, so se  $E_{MAX}$  pojavile že pri začetnih koncentracijah med 2,75 g/L in 5,5 g/L.

Četrta hipoteza pravi, da etanol upočasnjuje srčni utrip vodnih bolh in zato izpostavljenost raztopini z enako količino umetnega sladila in etanola pomeni izničenje nasprotujočih učinkov obeh dveh. Tudi ta hipoteza se je izkazala za nepravilno, saj prostorninsko razmerje 50:50 pomenilo izrazit depresorski učinek. Sinergistični učinki ciklamata in etanola, ki smo jih opazovali, so še precej neraziskano področje in vredni zanimanja prihodnjih raziskav.

Na osnovi rezultatov poskusov in študija literature zaključujemo, da dolgotrajno uživanje umetnih sladil ne prispevajo k znižanju teže in verjetno posega v metabolizem glukoze, zato ni primeren način za »odpravljanje« prekomerne telesne teže. Če se osredotočimo le na študije v od leta 2013 dalje, ugotovimo, da jih večina navaja, da so tudi umetna sladila povezana z nastankom diabetes tipa II (Fagherazzi s sodel., 2013). Študija opravljena na populaciji 3682 posameznikov, ki so vsaj 7 let redno uživali umetna sladila je pokazala, da se je telesna teža kar 47% testirancev, bolj natančno njihov indeks telesne mase, povečala v primerjavi s testno populacijo, ki ni uživala pijač ali hranil sladkanih z umetnimi sladili. Študije nakazujejo na povezavo med umetnimi sladili in porušenim ravnotežjem v telesu, ko gre za porabo kalorij, kar pomeni, da učinek umetnih sladil na centralni živčni sistemi ni isti kot pri sladkorjih. To deloma potrjujejo tudi naši poskusi. Človeški možgani se odzivajo na umetna sladila tako, da telesu sporočajo, da potrebuje

hrano/energijo. Sladek okus brez kalorij torej poveča "hrepenenje" po hrani. Da trendi povečanja srčnih utripov pri Huxolu in Natreeni niso podobni trendom pri glukozi ali fruktozi, smo potrdili tudi z našim poskusom (vpliv na srčni utrip).

Raziskovalci na Univerzi v Kaliforniji, San Diego so na 500 prostovoljcih posneli MRI slike, pri čemer je polovica uživala majhne požirke sladkane vode s saharozo in druga polovica požirke vode sladkane s sukralozo. Dokazali so, da sladkor aktivira tista možganska področja, ki so dogovorna za nagrajevanje, medtem ko sukraloza teh centrov ni aktivirala (Gardner s sodel., 2012), s čimer se občutek ugodja (nagrajevanja) ni sprožil.

Zanimiva je raziskava Franka s sodel. (2012) kjer so pri miškah, ki so jim v pitno vodo dodajali umetna sladila ugotovili glukozno intoleranco<sup>38</sup>. Ta pojav so opazili tako pri miškah, ki so bile normalno hranjene kot pri tistih, ki so imele z maščobami obogateno prehrano. Raziskava je pokazala, da uživanje umetnih sladil vpliva na sestavo in delovanje bakterijske črevesne flore (Nagler Taylor Feehley, 2014). Raziskavo so ponovili na 381 prostovoljcih, poprečne starosti 43 let. Tudi tukaj so ugotovili, da črevesna bakterijska flora tistih ljudi, ki redno uživajo umetna sladila ni enaka črevesni flori posameznikov, ki po umetnih sladilih ne posegajo. Vrednost markerjev za razvoj diabetesa tipa II je bila pri uživalcih umetnih sladil povečana, prav tako pa so zaznali moteno toleranco za glukozo. Raziskava se zaključuje s hipotezo, da umetna sladila pomagajo pri povečanju populacije bakterijskih vrst, ki ekstrahirajo energijo iz hrane in jo shranjujejo v obliki maščob (kar prispeva k debelosti) na ta način, da umetna sladila zavirajo rast tistega dela bakterijske flore, ki preprečuje odpornost na inzulin.

Umetna sladila niso potrebna za naše normalno prehranjevanje. Nič takega ne vsebujejo, da bi jih potrebovali, razen občutka »sladkosti«. Vendar nas ta »praznina« lahko tudi ogroža, zato predlagava zmanjšanje vnosa sladkorja v vseh oblikah, izjema je sadje ter občasna uporaba naravnega medu, ki ni bil segret nad temperaturo panja ter seveda – gibanje!

## 6.1 Možne izboljšave v nadaljnjem raziskovanju

Meritve srčnega utripa vodnih bolh zahtevajo izurjenost eksperimentatorja na eni strani in čim manj spremenljivk na strani testnih organizmov (starost, prehranjenost, oskrba s kisikom, spremembe pH, temperature). V meritvah so opazna nihanja, ki sva jih z večkratnimi ponovitvami želeli odpraviti, vendar to vedno ni bilo uspešno. Zato so v meritvah opazna odstopanja in večji standardni odkloni. Uporaba posebnih mrežic s katerimi bi zajeli le organizme popolnoma enakih velikosti (in s tem starosti), bi nekaj teh težav odpravila, vendar ne v celoti.

Drug problem je časovni, saj je vsaka meritev trajala v poprečju vsaj 4 minute, kar pomeni, da vse meritve nisva zmogli opraviti v enem terminu. Pogoji so se od dneva do dneva lahko zelo spremenili (z vidika testnih organizmov), zato je primerljivost rezultatov slabša.

---

<sup>38</sup> Glukozna intoleranca: je motnja v presnovi ogljikovih hidratov, povezana z inzulinsko rezistenco/metabolnim sindromom (pomanjkanje ali zmanjšan učinek inzulina), ki lahko vodi v sladkorno bolezen in kardiovaskularne bolezni (Slovenski medicinski e-slovar, dostopen na: <http://www.termania.net/slovarji/95/slovenski-medicinski-slovar>).



Za preučevanje vpliva različnih sladil na preučevani organizem bi bilo v bodoče dobro vključiti še kakšen fiziološki odziv ali bio-kemijsko meritev (npr. poraba hranilnih snovi) ali pa meritve izvajati na realnih testirancih (npr. EEG ob vnosu različnih hranil; meritve ravni glukoze v krvi po zaužiti hrani; itd.).

### **Družbena odgovornost**

Paradoksalno je, da se del sveta bori z debelostjo, medtem ko se na drugem koncu ljudje borijo za vsak košček hrane. Neverjetno je, kako smo uspeli v zelo kratkem času (po 2. svetovni vojni) v prehrano Evropejcev vključiti toliko sladkorja. Najdemo ga praktično povsod - od balzamičnega kisa, preko navadnih jogurtov, do suhomesnih izdelkov. Torej tudi v živilih, za katera ne pričakujemo, da so sladkega okusa. Ker je tovrsten vnos sladkorja nepotreben, obenem pa so se ljudje navadili okusa (odvisnost), uporabljamo nadomestke - umetna sladila. Slednja nimajo nobene prehranske vrednosti in zaradi njih se število predebelih ljudi ni zmanjšalo. Ne moremo pa trditi, da nimajo nobenega učinka na organizem, saj smo v nalogi dokazali, da delujejo kot stimulansi, torej delujejo na živčni sistem in biokemijske procese povezane z njegovim delovanjem. Vemo, da kljub podobnemu okusu, kot ga imajo naravni sladkorji, ne sprožajo enakih fizioloških odzivov. Potrebni bo še veliko raziskav, da bomo lahko razumeli njihovo delovanje v človeškem organizmu, zato na osnovi rezultatov poskusov, nisva zagovornici njihove uporabe.

## 7.0 VIRI

- 32 Opinion of the Scientific Committee on Food on sucralose, SCF/CS/ADDS/EDUL/190 Final 12/9/2000 (Dostopno na: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out68\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out68_en.pdf), 29.12.2014).
- Aditivi (Dostopno na: [http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA\\_PODROCJA/Zivila/aditivi\\_aro\\_me\\_encimi/ADITIVI\\_OCENA\\_VNOSA\\_final-2010.pdf](http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA_PODROCJA/Zivila/aditivi_aro_me_encimi/ADITIVI_OCENA_VNOSA_final-2010.pdf), 1.2. 2015).
- Ankram, S. 2008. Neurotransmitters: The Chemical Messengers of the Brain. Health, Disease, and Conditions, Medical Review Board. (Povzeto po: Neo/Sci Effects of Drugs and Alcohol on Daphnia Lab Investigation 2011).
- Berlec A, Štrukelj B. 2006. Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila; Sweet-tasting proteins as alternative sweeteners. Ljubljana; 2006.
- Black, K, Koller J.M., Miller, B.D. (2013). Rapid quantitative pharmacodynamic imaging by a novel method: theory, simulation testing and proof of principle (Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.117>, 5.2. 2015).
- Blenkuš Gabrijelčič, M. Prekomerna prehranjenost in debelost pri otrocih in mladostnikih v Sloveniji. Gradivo za Odbor DZ RS za zdravstvo, 2013 . IVZ RS.
- Boyer, R. Concepts in Biochemistry, 2nd edition . John Wiley & Sons, 2008.
- Devetak I. 2007. Program iz poskusov v kemiji osnove toksikologije. Ljubljana, 2007. (Dostopno na: <http://www.slideserve.com/sileas/program-iz-poskusov-v-kemiji-osnove-toksikologije-iztok-devetak-ljubljana-junij-2007>, 29.12.2014).
- Doc.dr. Milan Skitek, Najpogostejše laboratorijske preiskave in njihove orientacijske referenčne vrednosti v klinični praksi. Univerzitetni Klinični center Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo. (Dostopno na: <http://www.mf.uni-lj.si/dokumenti/0a3bd1df2e66c9c75385ab17ed124de8.pdf>, 1.2. 2015).
- Dolenc D, Šket B. 2010. Učbenik za 3. letnik splošnih gimnazij ter 2. letnik strokovnih gimnazij in klasične gimnazije. Ljubljana: DZS.
- E-ucbeniki. Nastane saharoze. (Dostopno na: <http://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index2.html>, 4.11.14).
- Fakulteta za šport. 2015. (Dostopno na: <http://www.fsp.uni-lj.si/slo/>, 29.12.2014).
- Fernstrom J.D, Munger S.D, Sclafani A, de Araujo I.E, Roberts A, Molinary S. 2012. Mechanisms for Sweetness. The Journal of Nutrition. 142: 1134S–1141S, 2012.
- Foam – insulation (Dostopno: <http://www.foam-insulation.co.uk/polyurethane/polyurethane-chemistry.htm>, 29.1.2015).
- HASPI Medical Biology Lab 16. 2011. Effects of Nicotine, Sugar, Caffeine, and Alcohol. Adapted from Neo/Sci Effects of Drugs and Alcohol on Daphnia Lab Investigation 2011. (Dostopno na: <http://www.haspi.org/curriculum-library/Med-Bio-Core-Labs/Med%20Bio%20Labs%202011%20-%202013/16%20Effects%20of%20Substances/16%20Effects%20of%20Substances%20-%20Student.pdf>, 29.12.2014).
- HBSC. 2010. Health Behaviour in School-Aged Children (31.1.2015).

- Jackson-Leach R, Lobstein T. Estimated burden of pediatric obesity and co-morbidities in Europe. Part 1. The increase in the prevalence of child obesity in Europe is itself increasing. *Int J Pediatric Obesit* 2006; 1: 26-32.
- Jeriček Klanšček H, Rožkar S, Koprivnikar H, Pucelj V, Bajt M, Zupanič T. 2011. Neenakosti v zdravju in z zdravjem povezanim vedenjem slovenskih mladostnikov. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja RS. (Dostopno na: <http://www.ivz.si/Mp.aspx?ni=109&pi=3&id=1873&PageIndex=1&groupId=228%3 news Category=%3 action>ShowNewsFull&pi=109-3.0>, 29.11.2014).
- Kerstin Petrič, K. 2013. Prehrana in gibanje za zdravje 2013-2023. akcijski načrt za izvajanje strategije razvoja javnega zdravja. (Dostopno na [http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/aktualno/strategija\\_razvoja\\_dejavnosti\\_javnega\\_zdravja\\_13\\_9\\_2013/Petric\\_Akcijski\\_nacrt.pdf](http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/aktualno/strategija_razvoja_dejavnosti_javnega_zdravja_13_9_2013/Petric_Akcijski_nacrt.pdf), 29.12.2014).
- Lyhne N, Ovesen L. 1995. Added sugars and nutrient density in the diet of Danish children. *Scandinavian Journal of Nutrition/Naringsforskning* Vol. 43:4-7.
- Minutes of the 120 th Meeting of the Scientific Committee on Food held on 8-9 March 2000 in Brussels (Dostopno na: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out57\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out57_en.html), 1.2. 2015).
- Molek P, Vodnik M, Kreft S, Lunder M, Bratkovič M, Štrukelj B, Vidmar K.H, Golob A, Hafner Bratkovič I, Ivičak-Kocjan K, Kadunc C, Smole A, Lainšček D, Mohorčič A, Kraševac N, Husić M. 2014. Poletni raziskovalni tabor Z dokazi podprta medicina. Ljubljana : Kemijski inštitut, 2014.
- Mortensen A. 2006. Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. Department of Toxicology and Risk Assessment, Danish Institute for Food and Veterinary Research, Søborg, Denmark. 2016.
- OECD. 2014. The Organisation for Economic Co-operation and Development. (Dostopno na: <http://www.oecd.org/els/health-systems/Briefing-Note-SLOVENIA-2014.pdf>, 29.12.2014).
- Predavanja za študente II. in III. letnika Živilstvo in prehrana. 2010/11. Senzorično zaznavanje. Ljubljana, 2010/11.
- Revised opinion on cyclamic acid and its sodium and calcium salts, scf/cs/edul/192 final, 13 March 2000 (Dostopno na: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53_en.pdf), 1.2. 2015).
- Schleidt S, Indelicato D, Feigenbutz A, Lewis C, Kohn R. 2009. Effect of an Aspartame-Ethanol Mixture on *Daphnia magna* Cardiac Activity. *Impulse: The Premier Journal for Undergraduate Publications in the Neurosciences*, 2009.
- Slo-tech (Dostopno na: <https://slo-tech.com/clanki/03029/03029.shtml>, 29.1.2015).
- Slovenski medicinski e-slovar (Dostopno na: <http://www.termania.net/slovarji/95/slovenski-medicinski-slovar>, 29.12.2014).
- Strel J, Starc G, Kovač M. 2011. SLOFIT sistem – analiza telesnega in gibalnega razvoja otrok in mladine slovenskih osnovnih in srednjih šol v šolskem letu 2010/2011. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za šport.
- Stušek P, Vilah B. 2010. Biologija celice in genetika: Učbenik za biologijo v programih gimnazijskega izobraževanja. Ljubljana: DZS.
- Thaumatin, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v20je15.htm>, (1.2 2015)

- Trček A. 2012. Alternative belemu sladkorju in možnosti njihove uporabe v organizirani študentski prehrani v delavnice d.o.o. Višja strokovna šola za gostinstvo in turizem Bled.
- Umetna sladila možganov ne preslepijo (Dostopno na: <http://www.delo.si/druzba/zdravje/umetna-sladila-mozganov-ne-preslepijo.html>, 1.2. 2015).
- Updated Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food on a request from the European Commission related to the 2nd ERF carcinogenicity study on aspartame taking into consideration study data submitted by the Ramazzini Foundation in February 2009. The EFSA Journal (2009) 1015, 1-18. (Dostopno na: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1015.pdf>, 29.12.2014).
- Updated Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food on a request from the European Commission related to the 2nd ERF carcinogenicity study on aspartame taking into consideration study data submitted by the Ramazzini Foundation in February 2009. The EFSA Journal (2009) 1015, 1-18. (Dostopno na: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1015.pdf>).
- Weinrauch M.D, Diehl V. 2004. Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Department of Internal Medicine I of the University of Cologne, Cologne, Germany. 2004 European Society for Medical Oncology; 15: 1460–1465, 2004.
- Whitehouse C.R, Boullata J, McCauley L.A. The Potential Toxicity of Artificial Sweeteners. AAOHN Journal 2008; Vol. 56, no. 6, 251-259.
- WHO. 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Technical Report Series 916. Copenhagen: World Health Organization, Regional office for Europe. (Dostopno na: [http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_trs\\_916.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf), 29.12.2014).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Aspartam (Dostopno na: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f0/Aspartame.svg>, 2.11.2014).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Ciklamat (Dostopno na: [http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate\\_Structural\\_Formulae\\_.V.1.svg](http://sl.wikipedia.org/wiki/Ciklamat#mediaviewer/File:Cyclamate_Structural_Formulae_.V.1.svg), 2.11.2014).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Daphnia magna (Dostopno na: <http://en.wikipedia.org/wiki/Daphnia>, 3.2.2015).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Kalijev acesulfam (Dostopno na: [http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev\\_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg](http://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev_acesulfam#mediaviewer/File:AcesulfameK.svg), 2.11.2014).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Saharin (Dostopno na: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Saccharin-2D-skeletal.png>, 2.11.2014).
- Wikipedija, prosta enciklopedija. Sukraloza (Dostopno na: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Sukraloza#mediaviewer/File:Sucralose2.svg>, 2.11.2014).
- Wikipedia, the free encyclopedia. Aspartam. (Dostopno na: <http://en.wikipedia.org/wiki/Aspartame>, 29.11.2015).