GRANT journal
ISSN 1805-062X, 1805-0638 (online), ETTN 072-11-00002-09-4

EUROPEAN GRANT PROJECTS | RESULTS | RESEARCH & DEVELOPMENT | SCIENCE

Stanovení aerobní biologické rozložitelnosti alternativních sladidel

Lukáš Fuka[1]
Vladimír Sýkora[2]
Iva Prokešová[3]
Marie Vojtíšková[4]

[1] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí; Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice; fukal@vscht.cz
[2] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí; Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice; vladimir.sykora@vscht.cz
[3] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí; Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice; prokesoi@vscht.cz
[4] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí; Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice; vojtiskm@vscht.cz

Grant: A2_FTOP_2015_001
Název grantu: Technologie vody III
Oborové zaměření: DJ - Znečištění a kontrola vody

© GRANT Journal, MAGNANIMITAS Assn.

Abstrakt Biologická rozložitelnost sladivých látek je tématem, které je stále více a detailněji zkoumáno. Práce svým způsobem navazuje na provedená pozorování emise sladivých látek do prostředí s cílem zodpovědět otázku ekologické vhodnosti použití jednotlivých sladivých látek s pozorovaným perzistentním charakterem. Pro sledování biologické rozložitelnosti byla vybrána dvě skupinová stanovení založená na sledování uvolněného CO_2 a DOC (rozpuštěný organický uhlík) jakožto nejvhodnější parametry pro hodnocení úplné biologické rozložitelnosti. Díky využití těchto metodik práce hodnotí i rozložitelnost všech meziproduktů biologického rozkladu spolu se sledováním toxického působení meziproduktů biologického rozkladu na inokulum.

Klíčová slova Biologická rozložitelnost, sladivé látky, neotam, acesulfam K, sukralóza, cyklamát, steviosid, rebaudiosid, ČSN EN ISO 9888, ČSN ISO 14593

1. ÚVOD

Práce zkoumá biologickou rozložitelnost vybraných sladivých látek, které se z ekologického hlediska jeví jako perzistentní. (Oppenheimer et al. 2011) Tyto účinky byly již dříve publikovány a dokonce některé z námi vybraných sladivých látek byly nominovány jako látky pro sledování nově vzniklého fekálního znečištění, neboť sladivé látky jsou spjaty především s odpadními vodami pocházejícími z aglomerací. (Scheurer et al.; Scheurer et al. 2010) Se sladivými látkami se zpravidla v průmyslovém odvětví nesetkáváme, neboť většina sladivých látek je vyráběna v poměrně malém počtu výrobních závodů. Zpracovatelský průmysl sladivých látek, tedy průmysl potravinářský, jisté množství sladivých látek do prostředí emituje, avšak toto množství není významné či přesněji není považováno za významný zdroj znečištění vod sladivými látkami. Námi vybrané sladivé látky jsou používány v potravinářském průmyslu nejen pro doslazování, ale také pro dochucování, tedy přesněji jako zvýrazňovače chutí, neboť samotné doslazování můžeme také považovat za dochucování. Avšak některé sladivé látky spíše působí jako zvýrazňovače chuti, a proto se jedná skutečně o dochucování. Z tohoto důvodu se můžeme se sladivými látkami setkat v širším spektru produktů a ve větší míře, než kdyby byly používány pouze pro doslazování.

2. BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST

Cílem naší práce je zkoumání úplné biologické rozložitelnosti vybraných sladivých látek. Pro účely této práce byly vybrány dva testy, kdy jeden využívá otevřeného systému s vysokým biodegradačním potenciálem a je založen na monitorování úbytku substrátu, vyjádřeného skupinovým stanovením DOC či CHSK (chemická spotřeba kyslíku). Druhý test je oproti tomu založen na uzavřeném systému, v němž je možné sledovat nárůst koncentrace oxidu uhličitého, jakožto konečného produktu úplného biologického rozkladu. Jeho biodegradační potenciál není tak vysoký jako je tomu v případě prvního testu, nicméně uzavřený systém umožňuje pracovat i s těkavými produkty či meziprodukty, neboť postačuje i minimální rozpustnost ve vodní fázi, aby bylo možné stanovit jejich biologickou rozložitelnost. Tato skutečnost se u sladivých látek zdá jako podstatná, neboť v literatuře je uváděno, že produkty kyselé či alkalické hydrolýzy jsou schopny být stripovány spolu s vodní parou.

Prvně jmenovaná námi zvolená metoda vychází z normy ČSN EN ISO 9888, známá taktéž pod názvem Zahn-Wellensův test (dále jen jako ZW test). ZW test je založen na sledování úbytku rozpuštěného organického uhlíku v otevřeném systému se směsnou polykulturou mikroorganismů či s kulturou vykultivovanou v rámci testů s adaptovanou biomasou. Pro účely této práce byla použita pouze neadaptovaná polykultura mikroorganismů zastoupená aktivovaným kalem. Doba inkubace testu probíhá 28 dní, tuto dobu je možné v případě potřeby prodloužit. (ČSN EN ISO 9888 2000)

Test z hlediska své vypovídací hodnoty odpovídá co do intenzity kontaktu testované látky s mikroorganismy biologické čistírně odpadních vod. Z hlediska nastavených parametrů se jedná o test s jedním z nejvyšších degradačních potenciálů, a proto je nanejvýše vhodný pro testování perzistentnosti vybraných sladivých látek. Z hlediska možného toxického působení na směsnou polykulturu mikroorganismů je tento test maximálně příznivý pro negativní výsledek testu toxicity.

Druhým použitým testem v rámci zkoumání úplné biologické rozložitelnosti je test vycházející z normy ČSN ISO 14593 (dále jen jako HS test), kdy tento test vychází ze sledování přírůstku CO_2 v daném podmodelu, tedy je sledován jeden z konečných produktů biologického rozkladu. Vstupní polykultura mikroorganismů je stejná jako je tomu u ZW testu, avšak námi užívaná dávka směsné polykultury mikroorganismů je 20krát nižší při započtení rozdílné dávky substrátu. Tedy tento test je významně citlivější na toxické působení jednotlivých produktů či meziproduktů biologického rozkladu. (ČSN ISO 14593 2005)

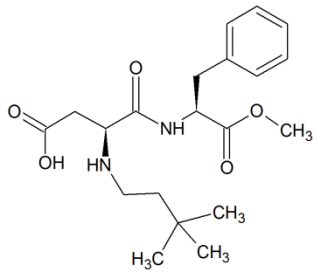
3. TESTOVANÉ LÁTKY

Pro sledování biologické rozložitelnosti bylo vybráno celkem šest sladivých látek, kdy dvě sladivé látky jsou přírodního charakteru, a to steviosid a rebadiosid. Zbylé čtyři sladivé látky jsou sladidly umělými či chemicky modifikovanými, vycházejícími z přírodních sladivých látek. Jmenovitě se jedná o neotam, acesulfam K, sukralózu a cyklamát.

Každé sladidlo je z potravinářského hlediska charakterizováno jedním z hlavních ukazatelů, a to relativní sladivostí. Tato sladivost je zpravidla vztahována k sacharóze, avšak může sloužit i k vzájemnému porovnání sladivých látek mezi sebou. Sladivost udává vlastnost, kolikrát je dané sladidlo sladivější nežli druhé.

3.1 Neotam

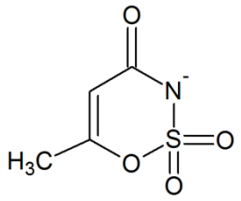
Neotam je sladidlo vycházející ze struktury aspartamu, kdy k dusíkaté bázi je připojen uhlíkatý řetězec s kvartérním uhlíkem, který významným způsobem zvyšuje jeho sladivost. U aspartamu hovoříme o sladivosti na úrovni 200 násobku sacharózy, u neotamu je sladivost zvýšena v rozmezí 7 000 - 13 000 násobku sacharózy. (Cadena and Bolini 2012) Z hlediska ekologické vhodnosti tohoto sladidla není k dispozici příliš mnoho publikací, neboť se jedná o sladidlo poměrně nové. Jeho schválení v rámci použití pro EU proběhlo teprve před 5 lety. Jeho použití v potravinářském průmyslu je tímto velmi zasaženo, neboť většina potravinářských společností je zvyklá používat jiné sladivé látky, a tedy jeho prosazení na trhu bude ještě trvat. (Scheurer et al. 2009) Jeho handicapem je rovněž vysoká sladivost, která poměrně zesložiťuje manipulaci s ním, neboť i malé aerogenní znečištění distribuuje dlouhý sladivý efekt na zasaženém subjektu. Oproti aspartamu je toto sladidlo vhodné i pro uživatele trpící fenylketonurií, kteří nemohou zpracovávat fenylalanin, který se v případě aspartamu uvolňuje téměř ze 100 %. V případě neotamu už tomu tak ale není, neboť se z něj uvolní maximálně několik procent fenylalaninu, což v kombinaci s minimálními dávkami tohoto sladidla znamená z hlediska spotřebitelského, že na obalech produktů obsahujících neotam nemusí být varování, že produkt je zdrojem fenylalaninů. Struktura neotamu je zachycena na obrázku 1. (Směrnice komise 2009/163/EU 2009; Kováčiková 2010)



Obrázek 1: Znázornění umělého sladidla neotamu

3.2 Acesulfam K

Acesulfam K je jednou z perzistentních sladivých látek, která je masově využívána v rámci celého potravinářského průmyslu zejména pro vysoký sladivý efekt, nízkou cenu a příjemný chuťový projev pro evropské obyvatelstvo. Jeho sladivost je udávána jako 300 – 350 násobek sladivosti sacharózy. Z chemického hlediska se jedná o krystalickou látku, dobře rozpustnou v polárních rozpouštědlech. Z hlediska čistírenského je toto sladidlo velmi stabilní, neboť úbytky pozorované na čistírnách odpadních vod jsou spíše v řádu procent, kdy lze úspěšně pochybovat o statistické významnosti takovéhoto úbytku, neboť koncentrace těchto mikropolutantů jsou v čase poměrně proměnlivé. (Soh et al. 2011) Velkou výhodou tohoto sladidla z pohledu úpravy vody je, že se velice dobře sorbuje na aktivní uhlí, čehož se s výhodou může využít ve vodárenských provozech, kdy již po krátkém kontaktu dochází k odstranění tohoto sladidla pod mez detekce moderních analytických metod. Strukturu acesulfamu K naleznete na obrázku 2. (Harwood 2014; Scheurer, Brauch and Lange 2009)

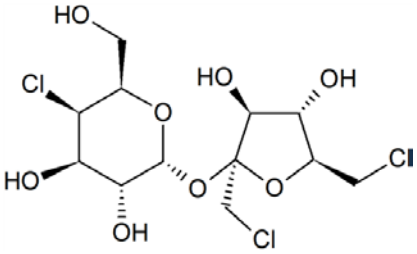


Obrázek 2: Znázornění umělého sladidla acesulfamu (v iontové podobě)

3.3 Sukralóza

Tato sladivá látka je mnoha lidem velice sympatická, zejména z důvodu, že vychází z modifikované sacharózy, do níž jsou zavedeny tři atomy chloru, tedy toto sladidlo je možné postihnout parametrem AOX (adsorbovatelné organicky vázané halogeny) v rámci čistírenství. Sladivost tohoto sladidla se pohybuje na úrovni 600 násobku sacharózy, jedná se tedy o jednu z velmi sladivých látek, masově používanou pro doslazování potravinářských výrobků. Rovněž je obecně pokládána za perzistentní sladidlo, a je tedy i navrhována jako sladidlo pro sledování nového fekálního znečištění. (Iwai et al. 2009; Van Stempvoort et al. 2011) Z lékařských pozorování je toto sladidlo označováno jako sladidlo biologicky stabilní, nepodléhající téměř žádným humánním biotransformacím a ani u jiných organismů nebyla pozorována jakákoliv metabolizace. (Roberts et al. 2000) Sukralóza za standardních podmínek nepodléhá hydrolýze a je vysoce teplotně stabilní. Hydrolýzy lze dosáhnout pouze zvýšením teploty a výraznými změnami hodnoty pH, a to pod hodnotu 3 nebo nad hodnotu pH 10, a dlouhou dobou zdržení. Při úpravě vody lze však využít vysoké afinity tohoto sladidla k aktivnímu uhlí, kdy se sukralóza chová jako většina chlorovaných uhlovodíků a dojde

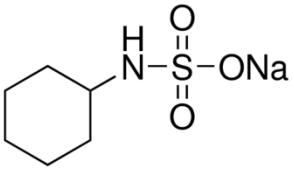
k téměř úplnému odstranění tohoto mikropolutantu. Struktura sukralózy je zachycena na obrázku 3.(Harwood 2014)



Obrázek 3: Znázornění chemicky modifikovaného sladidla sukralózy

3.4 Cyklamát

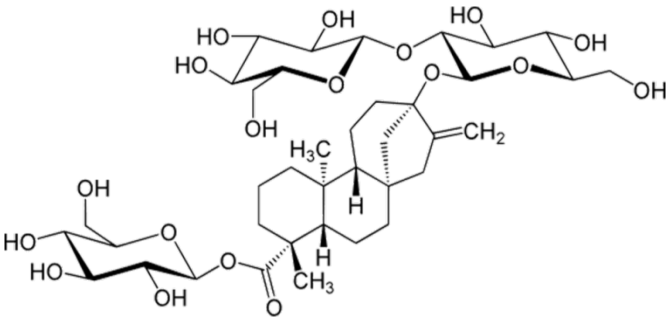
Cyklamát je sladivá látka disponující jednou z nejnižších sladivostí mezi umělými sladidly a sladidly používanými v potravinářském průmyslu. Jeho sladivost se pohybuje na úrovni 30 – 50 násobku sacharózy. Z tohoto důvodu není těžiště využití cyklamátu jako sladivé látky, ale je používán spíše pro dochucování, zvýrazňování sladké chuti (zvýrazňuje i další chuťové vjemy), případně je využíváno jeho synergického efektu s jinými sladivými látkami. Vzniklá směs má významně vyšší sladivost nežli samotný součet sladivostí sladivých látek použitých ve směsi. Tato sladivost rovněž velmi často převyšuje sladivost samotného nejsladivějšího sladidla použitého ve stejné hmotnosti, jako je hmotnost celé směsi sladidel. Vzniklá směs má rovněž významně lepší chuťový projev a je lépe zákaznicky přijímána. (Doležal 2009) Struktura tohoto sladidla je zachycena na obrázku 4. (Číž 2008; Scheurer et al. 2014)



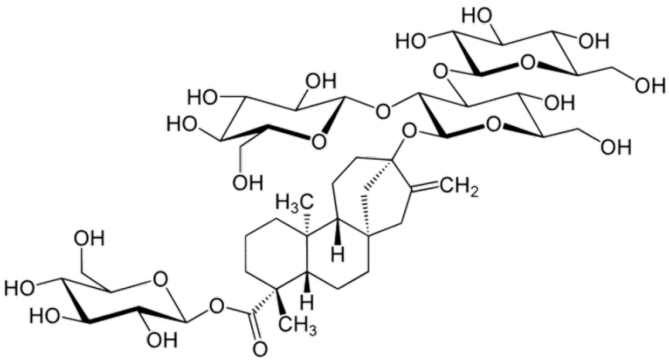
Obrázek 4: Znázornění umělého sladidla cyklamát v jeho sodné formě

3.5 Steviosid a rebaudiosid

Obě tyto sladivé látky jsou přírodními sladidly a vycházejí z nyní již popularizované rostliny Stevie rebaudiana. Jedná se o glykosidy obsažené v listu stévie, v němž jsou zastoupeny nejen obě dvě sladivé látky, ale i další glykosidy, které se již v potravinářském průmyslu nevyužívají zejména proto, že nevykazují sladkou chuť, neboť jsou ve vodě nerozpustné. Volbou pěstebních podmínek mění poměry získávaných glykosidů a jsme schopni jako lidstvo správnou péčí o rostliny zvýšit výtěžky steviosidu a rebadiosidu. Sladivost těchto látek je často spojena s jejich čistotou, neboť na trh jsou dodávána v různých kvalitách, lišících se svojí sladivostí, kdy u čistých produktů můžeme hovořit o sladivosti mezi 250 – 350 násobku sacharózy. Obě sladivé látky jsou v rámci humánních biotransformací částečně metabolizovány, kdy dochází k uvolnění glykosidových jednotek, které zejména u pacientů trpících vážnou formou diabetu mohou závažně zvýšit glykemický index, avšak dávky tohoto přírodního sladidla jsou oproti sacharóze velice nízké, nicméně i tento přírůstek jednoduchých sacharidů může být pro některé spotřebitele nečekaný. (Stolte et al. 2013) Tyto sladivé látky jsou poměrně hojně medializovány, neboť jejich přírodní původ je v rámci spotřebitelské sítě až glorifikován. Struktura steviosidu je znázorněna na obrázku 5 a rebaudiosidu na obrázku 6. Povšimněte si jejich vzájemné podobnosti, lišící se pouze v obsahu jedné molekuly glukózy. (Brandle and Telmer 2007; Kohda et al. 1976; Starratt et al. 2002)



Obrázek 5: Znázornění přírodního sladidla steviosidu

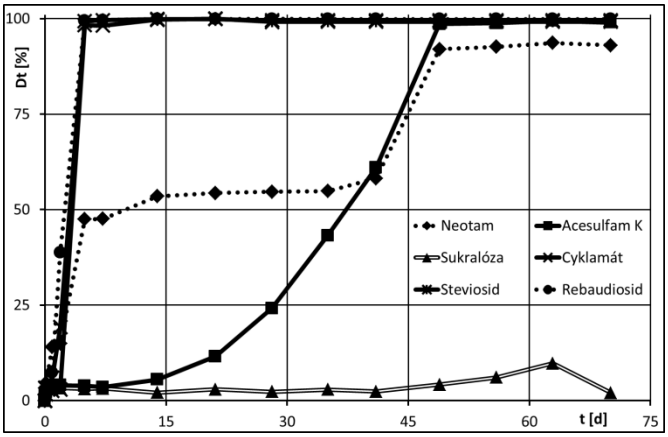


Obrázek 6: Znázornění přírodního sladidla rebaudiosidu

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 ZW test

Vyhodnocení výsledků zkoušek je zachyceno na obrázku 7, kde každá křivka znázorňuje průběh pozorovaného biologického rozkladu za podmínek ZW testu.



Obrázek 7: Graf závislosti stupně biologického rozkladu sladivých látek na čase během ZW testu

Z hlediska hodnocení biologického rozkladu za podmínek ZW testu můžeme prohlásit, že látka je potenciálně biologicky rozložitelná v případě, že překročí hodnota biologického rozkladu limitní hodnotu 70 % v průběhu 28 dní. Za těchto podmínek můžeme námi testované látky rozdělit do tří skupin, a to na látky potenciálně

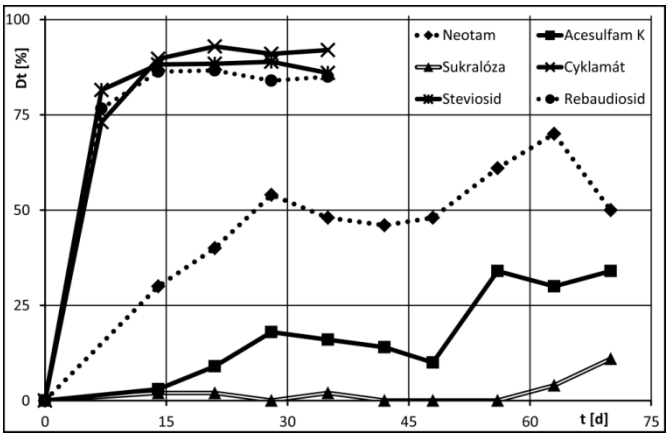
biologicky rozložitelné, což jsou steviosid, rebaudiosid a cyklamát, které byly za podmínek zkoušky odstraněny téměř ze 100 % do 5. dne provozu testu. Po této době byla již pozorována pouze prodleva.

Další skupinou látek, kterou můžeme definovat, jsou látky v průběhu testu částečně biologicky rozložitelné do 28. dne. U těchto látek byl zaznamenán pouze částečný biologický rozklad, který však nepostačuje k tomu, abychom o látkách mohli prohlásit, že jsou za podmínek zkoušky potenciálně biologicky rozložitelné. Tato skupina je reprezentována látkami neotam a acesulfam K. Z průběhu testu dále vidíme, že při prodloužení doby inkubace došlo u těchto látek k téměř úplnému biologickému rozkladu a z hlediska vedení procesu biologické rozložitelnosti můžeme tedy o těchto látkách říci, že se za podmínek zkoušky a prodloužení doby inkubace jedná o látky biologicky rozložitelné.

Poslední skupinou či spíše látkou je sukralóza, kdy tato látka v průběhu testu neprojevovala žádné významnější interakce s vloženou biomasou, a tedy je za podmínek zkoušky i prodloužené doby inkubace biologicky natolik perzistentní, že prochází celým průběhem testu bez změny obsahu organického uhlíku. Z hlediska predikce biologické rozložitelnosti bylo poměrně zřejmé, že sukralóza může být dostatečně biologicky stabilní a bude odolávat i prostředím s vysokými koncentracemi mikroorganismů, neboť se jedná o chlorovaný uhlovodík. U těchto typů látek je pravděpodobnější jejich biologická degradace spíše v anaerobních podmínkách, v nichž je možné počítat s dehydrohalogenací, která v rámci aerobních podmínek není popsána.

4.2 HS test

Na obrázku 8 jsou vyobrazeny výsledky HS testu.



Obrázek 8: Graf závislosti stupně biologického rozkladu sladivých látek na čase během HS testu

Hodnocení biologické rozložitelnosti v případě HS testů je následující: látka je snadno biologicky rozložitelná za předpokladu, že do 28. dne (test je možné dle potřeb prodloužit) překročí hranici biologického rozkladu 60 %. Této hranice dosáhly celkem 3 sladivé látky: cyklamát, steviosid a rebaudiosid, z toho důvodu byly tyto testy ukončeny již 35. den. Neotam se k této hranici velice přiblížil, nicméně po prodloužení doby inkubace jej můžeme považovat za biologicky rozložitelné sladidlo. Acesulfam K a sukralóza nedosáhly ani po prodloužení doby inkubace potřebné hranice pro to, aby mohly být prohlášeny za látky snadno biologicky rozložitelné. Je nutné rovněž zdůraznit, že získaná data jsou významně ovlivněna dobou inkubace, neboť prodloužení doby inkubace na téměř trojnásobek obvyklé doby přináší zvýšení rozkolísanosti jednotlivých podmodelů provozovaných v rámci celého testu, což vede k větší zdánlivé nestabilitě a rozkolísanosti křivek biologického rozkladu. Bohužel další prodlužování testů nebylo možné z důvodů stále se snižující výpovědní hodnoty, kdy tyto doby inkubace můžeme prohlásit jako hraniční pro správnou interpretaci získávaných dat.

4.3 Zhodnocení toxicity

V rámci provádění těchto testů jsme se věnovali i základnímu hodnocení toxicity pro směsnou mikrobiální kulturu, kdy byla testována aktivita inokula přidáním snadno rozložitelného substrátu a byl pozorován jeho úbytek. Ani v jednom z námi provedených experimentů se však neprojevil jakýkoliv inhibiční efekt za podmínek vedení testů. V případě ZW testu jsou vstupní koncentrační poměry následující: dávka substrátu 50 mg/l DOC a dávka inokula odpovídající 200 mg/l sušiny inokula, u HS testu jsou vstupní koncentrace výrazně sníženy na 20 mg/l DOC a na 4 mg/l sušiny inokula.

Výsledky tedy nejsou ovlivněny toxickým působením testované látky, kdy samozřejmě humánní toxicita námi zkoumaných látek je velice nízká či spíše zanedbatelná, a tedy nebyl základní předpoklad, že bude pozorován toxický efekt na inokulum, nicméně jsme se setkali v rámci naší práce i s tvrzeními, že sladivé látky mohou ovlivňovat mikrobiální složení směsných kultur a z toho důvodu bylo provedení tohoto testu nezbytné.

5. ZÁVĚR

Provedené experimenty jasně demonstrují, že v průběhu testů nebyl pozorován žádný toxický či inhibiční účinek námi testovaných sladivých látek. Z hlediska hodnocení biologické rozložitelnosti můžeme říci, že steviosid, rebaudiosid a cyklamát jsou za podmínek zkoušek snadno i potenciálně biologicky rozložitelné a v případě prodloužení doby inkubace lze označit za snadno biologicky rozložitelný neotam a potenciálně biologicky rozložitelné i acesulfam K a neotam. Jako perzistentní látku z námi testovaných sladivých látek můžeme označit pouze sukralózu, která za podmínek zkoušky vykázala zcela minimální biologický rozklad, který lze označit spíše za chybu stanovení.

Zdroje

1. ČSN EN ISO 9888. Jakost vod - Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí - Statická zkouška (Zahn-Wellensova metoda). Praha: Český normalizační institut, 2000.
2. ČSN ISO 14593. Jakost vod - Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí - Metoda stanovení anorganického uhlíku v těsně uzavřených lahvičkách (CO2 headspace metoda). Praha: Český normalizační institut, 2005.
3. SMĚRNICE KOMISE 2009/163/EU ze dne 22. prosince 2009, kterou se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 94/35/ES o náhradních sladidlech pro použití v potravinách, pokud jde o neotam, 2009.
4. BRANDLE, J. E. AND P. G. TELMER Steviol glycoside biosynthesis. Phytochemistry, 2007, 68(14), 1855-1863.
5. CADENA, R. S. AND H. M. A. BOLINI Ideal and relative sweetness of high intensity sweeteners in mango nectar. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(5), 991-996.
6. ČÍŽ, K. Alternativní sladidla. Listy cukrovarnické a řepařské, 2008, 124(9-10), 278-279.
7. DOLEŽAL, M. Sladidla používaná ve farmacii a potravinářství. Prakt. lékáren., 2009, 5(1), 29-31.

8. HARWOOD, J. J. Molecular markers for identifying municipal, domestic and agricultural sources of organic matter in natural waters. Chemosphere, 1// 2014, 95(0), 3-8.
9. IWAI, Y., F. ARAKAWA, Y. TAKEMURA, S. ITO, et al. Biodegradability of sucralose. Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi, 2009, 16(Copyright (C) 2012 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.), 84-91.
10. KOHDA, H., R. KASAI, K. YAMASAKI, K. MURAKAMI, et al. New sweet diterpene glucosides from Stevia rebaudiana. Phytochemistry, 1976, 15(6), 981-983.
11. KOVÁČIKOVÁ, E., TURZOVÁ A., MOROCHOVIČOVÁ M., SUHAJ M.,. Cukor a jeho alternatívne náhrady – objektívne hodnotenie ich úloh vo výžive človeka. Bratislava: 2010.
12. OPPENHEIMER, J., A. EATON, M. BADRUZZAMAN, A. W. HAGHANI, et al. Occurrence and suitability of sucralose as an indicator compound of wastewater loading to surface waters in urbanized regions. Water Research, 2011, 45(13), 4019-4027.
13. ROBERTS, A., A. G. RENWICK, J. SIMS AND D. J. SNODIN Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. Food and Chemical Toxicology, 2000, 38, Supplement 2(0), 31-41.
14. SCHEURER, M., H.-J. BRAUCH AND F. LANGE Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 394(6), 1585-1594.
15. SCHEURER, M., H.-J. BRAUCH AND F. T. LANGE. Transformation Products of Artificial Sweeteners. In Transformation Products of Emerging Contaminants in the Environment. John Wiley and Sons Ltd, 2014, p. 525-544.
16. SCHEURER, M., M. GODEJOHANN, A. WICK, O. HAPPEL, et al. Structural elucidation of main ozonation products of the artificial sweeteners cyclamate and acesulfame. Environmental Science and Pollution Research, 1-12.
17. SCHEURER, M., F. R. STORCK, H.-J. BRAUCH AND F. T. LANGE Performance of conventional multi-barrier drinking water treatment plants for the removal of four artificial sweeteners. Water Research, 2010, 44(12), 3573-3584.
18. SOH, L., K. A. CONNORS, B. W. BROOKS AND J. ZIMMERMAN Fate of Sucralose through Environmental and Water Treatment Processes and Impact on Plant Indicator Species. Environmental Science & Technology, 2011/02/15 2011, 45(4), 1363-1369.
19. STARRATT, A. N., C. W. KIRBY, R. POCS AND J. E. BRANDLE Rebaudioside F, a diterpene glycoside from Stevia rebaudiana. Phytochemistry, 2002, 59(4), 367-370.