

*Mitteilung aus dem Institut für Lebensmittelchemie und -technologie der
Technischen Universität Wien in Zusammenarbeit mit dem Institut für Botanik,
Technische Mikroskopie und organische Rohstofflehre der Technischen
Universität Wien*

Der Einfluß von Natriumsaccharin und Natriumcyclamat auf wasserlösliche Vitamine und essentielle Aminosäuren

G. Kroyer und J. Washüttl

Mit 4 Tabellen

(Eingegangen am 29. Januar 1979)

Einleitung

Die synthetischen Süßstoffe Natriumsaccharin und Natriumcyclamat zählen zu den am häufigsten verwendeten künstlichen Süßungsmitteln. Sie haben als Zuckerersatz in Lebensmitteln und Getränken bei Erkrankungen, bei denen aus medizinisch-therapeutischen Gründen die Aufnahme von Saccharose reduziert bzw. völlig eingeschränkt werden soll, der Patient jedoch nicht auf die Geschmacksempfindung „süß“ verzichten will, Eingang gefunden. In zunehmendem Maße wurden diese Süßungsmittel jedoch auch von Gesunden als Zuckerersatz verwendet, um einer Zufuhr unerwünschter Kalorien entgegenzuwirken.

Die Literaturfülle der letzten Jahre über Saccharin und insbesondere über Cyclamat läßt das zunehmende wissenschaftliche Interesse auf diesem Gebiet erkennen. Es sind zahlreiche Untersuchungen über die Toxizität, Karzinogenität, Embryotoxizität und Mutagenität dieser Substanzen durchgeführt worden. Jedoch blieb die Frage nach der Wechselbeziehung der künstlichen Süßstoffe mit Lebensmittelinhaltstoffen, vor allem Proteinen, Aminosäuren und Vitaminen, fast unbeachtet, obwohl gerade diese Thematik enorme lebensmittelchemische und ernährungswissenschaftliche Auswirkungen zeitigen könnte. Über die Interaktion von Saccharin bzw. Cyclamat mit Proteinen (Aminosäuren) berichten Kojima et al. (1), daß Albumin und Casein aus einer wäßrigen Lösung bei Zusatz von Natriumcyclamat gefällt werden. Andere Autoren (2, 3, 4, 5) wiesen eine Bindung der Süßstoffe an Blutproteine nach. Bezüglich der Wechselwirkung von Cyclamat bzw. Saccharin mit Vitaminen gibt es sehr divergierende Ansichten. So behaupten einige Autoren, daß die Zugabe von Saccharin bzw. Natriumsaccharin stabilisierend wirken soll. Eine Zugabe von Saccharin beeinflußte angeblich die Aktivität von Vitaminzusätzen nicht (6). Auch Riboflavin-, Thiamin- und Ascorbinsäure-haltige Säfte (Sirup) konnten dadurch stabilisiert werden, indem Saccharose, Vanillin u. a. durch Sorbitol, Natriumsaccharin usw. ersetzt wurden (7). Im Gegen-

satz dazu stehen allerdings die Untersuchungen von *Fukuda* et al., wonach eine Stabilisierung von Ascorbinsäure und Natriumascorbat durch Natriumsaccharin vermindert, durch Natriumcyclamat bemerkenswert vermindert wurde (8).

Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Wechselwirkung von künstlichen Süßstoffen mit Lebensmittelinhaltstoffen befaßt sich die vorliegende Studie über den Einfluß von Natriumsaccharin und Natriumcyclamat auf wasserlösliche Vitamine und essentielle Aminosäuren bei Raumtemperatur und erhöhter Temperatur in Modellversuchen. Gleichzeitig wurde zum Vergleich auch das Verhalten dieser Lebensmittelinhaltstoffe gegenüber dem natürlichen Süßstoff Saccharose untersucht.

Material und Methodik

Die künstlichen Süßstoffe Natriumsaccharin und Natriumcyclamat sowie der natürliche Süßstoff Saccharose wurden mit einer entsprechenden Menge der wasserlöslichen Vitamine C, B₁, B₂, B₆, B₁₂ und Nicotinsäureamid (Vitamin PP) bzw. der essentiellen Aminosäuren Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin versetzt. Vom natürlichen Süßstoff Saccharose wurden 10 g¹⁾ eingesetzt und von den künstlichen Süßstoffen jene Menge, die in ihrer Süßkraft 100 g Saccharose entspricht, nämlich 300 mg Natriumsaccharin und 3,5 g Natriumcyclamat. Bei den Vitaminen und Aminosäuren kamen die täglichen Bedarfsmengen im Verhältnis dazu zum Einsatz.

Die Mischungen reagierten dabei sowohl in wäßriger Lösung bei Raumtemperatur und 80 °C als auch im festen Zustand bei 120 °C und 150 °C. Die Versuche bei Raumtemperatur erstrecken sich über mehrere Tage (20 bis 30 Tage), diejenigen bei erhöhter Temperatur währten eine Stunde lang. Die Bestimmung der Vitaminmengen erfolgte dünnenschichtchromatographisch auf Kieselgel GF₂₅₄ mit Eisessig/Aceton/Methanol/Benzol (5 + 5 + 20 + 70) als Laufmittel und Messung im UV-Licht bei 254 nm (Vitamin C, B₁, B₆, Nicotinsäureamid) bzw. 365 nm (Vitamin B₂, B₁₂).

Die Bestimmung der Aminosäuremengen wurde gleichfalls auf dünnenschichtchromatographischem Wege durchgeführt. Als Sorptionsmittel wurde Kieselgel G verwendet, als Laufmittel diente n-Butanol/Eisessig/Wasser (80 + 20 + 20), der Nachweis erfolgte mittels Ninhydrin.

Ergebnisse und Diskussion

Wie die durchgeführten vergleichenden Untersuchungen im Modellfall bei wäßrigen Lösungen von Natriumsaccharin und Natriumcyclamat sowie Saccharose mit essentiellen Aminosäuren und wasserlöslichen Vitaminen zeigten, war in den meisten Fällen kein Einfluß dieser Substanzen auf die untersuchten essentiellen Lebensmittelinhaltstoffe zu erkennen. So konnten insbesondere im Lagerversuch bei Raumtemperatur bei den Vitaminen C, B₁, B₂, B₆, B₁₂ und Nicotinsäureamid keine bemerkenswerten Verluste, weder bei Zugabe von natürlichen Süßstoffen noch bei Zugabe von künstlichen Süßstoffen, festgestellt werden. Genauso lagen auch die Verhältnisse für die essentiellen Aminosäuren Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin und Valin. Dagegen konnten bei Phenylalanin

¹⁾ Die den künstlichen Süßstoffen in der Süßkraft entsprechende Menge wäre 100 g Saccharose. Aufgrund analytischer Aspekte wurde jedoch eine Menge von 10 g Saccharose bei den Versuchen verwendet.

Tab. 1. Prozentuale Darstellung der Abnahme des Gehaltes an Tryptophan und Phenylalanin nach Zugabe von Natriumcyclamat, Natriumsaccharin und Saccharose bei Raumtemperatur in Abhängigkeit von der Lagerdauer.

Einwirkungs- dauer	% Tryptophanabnahme bei Einwirkung von			% Phenylalaninabnahme bei Einwirkung von		
	Na- Saccharin	Na- Cyclamat	Saccha- rose	Na- Saccharin	Na- Cyclamat	Saccha- rose
1 h	0	0	0	0	0	0
1 d	0	0	0	1	1	0
5 d	7	18	0	2	4	1
10 d	5	25	2	5	11	2
14 d	9	42	3	10	16	3
24 d	13	47	3	—	—	—
28 d	—	—	—	10	17	3

Die Werte stellen Mittelwerte aus zwei voneinander unabhängigen Versuchsdurchgängen dar.

geringe, bei Tryptophan aber erhebliche Verluste bei Natriumcyclamat-Zusatz gegen Ende des durchgeföhrten Lagerversuchs nachgewiesen werden.

In Tabelle 1 ist daher die prozentuelle Abnahme der Werte für Tryptophan (0,25 g) und Phenylalanin (1,1 g) in einer wäßrigen Lösung mit Natriumsaccharin (0,3 g), Natriumcyclamat (3,5 g) bzw. Saccharose (10 g) bei Lagerung bei Raumtemperatur angeführt.

Die im Modellfall durchgeföhrten vergleichenden Untersuchungen bei Mischungen von wasserlöslichen Vitaminen mit Natriumsaccharin, Natriumcyclamat und Saccharose in fester Form zeigten, daß bei einstündiger Einwirkung bei 120 °C bzw. 150 °C bei den Vitaminen B₂, B₆, B₁₂ und Nicotinsäureamid keine bemerkenswerten Verluste auftraten. Jedoch ließen sich bei den Vitaminen C und B₁ einige sehr deutliche Veränderungen erkennen.

In Tabelle 2 ist die prozentuelle Abnahme der Menge an Vitamin C bei einstündiger Einwirkungszeit bei einer Temperatur von 120 °C bzw. 150 °C angeführt.

Bemerkenswert ist die überaus starke Abnahme des Vitamin-C-Gehaltes bei der Erhitzung eines Gemisches mit Natriumsaccharin auf 150 °C.

Tab. 2. Prozentuale Darstellung der Abnahme des Gehaltes an Vitamin C nach Zugabe von Natriumsaccharin, Natriumcyclamat und Saccharose bei einstündiger thermischer Behandlung.

Probe	% Vitamin-C-Abnahme	
	120 °C	150 °C
Vitaminstandard (75 mg)	0	0
Vitamin (75 mg) + Na-Saccharin (300 mg)	14	93
Vitamin (75 mg) + Na-Cyclamat (3,5 g)	8	11
Vitamin (75 mg) + Saccharose (10 g)	3	9

Die Werte sind Mittelwerte aus 3 Versuchsdurchgängen.

Tab. 3. Prozentuale Darstellung der Abnahme des Gehaltes an Vitamin B₁ nach Zugabe von Natriumsaccharin, Natriumcyclamat und Saccharose bei einstündiger thermischer Behandlung.

Probe	% Vitamin-B ₁ -Abnahme	
	120 °C	150 °C
Vitaminstandard (15 mg)	0	0
Vitamin (15 mg) + Na-Saccharin (300 mg)	6	33
Vitamin (15 mg) + Na-Cyclamat (3,5 g)	8	7
Vitamin (15 mg) + Saccharose (10 g)	4	3

Die Werte sind Mittelwerte aus 3 Versuchsdurchgängen.

Tabelle 3 zeigt die prozentuelle Abnahme der Menge an Vitamin B₁ im Gemisch mit Saccharose sowie der beiden künstlichen Süßstoffe bei einer Temperatur von 120 °C bzw. 150 °C²⁾.

Bei einstündiger Behandlung auf 150 °C tritt eine deutliche Verringerung des Vitamingehaltes bei Anwesenheit von Natriumsaccharin gegenüber den Vergleichsproben auf.

Bemerkenswert ist jedoch das Auftreten weiterer nicht unbeachtlicher Substanzpeaks auf dem Chromatogramm der Vitamin-B₁-Na-Saccharin-Mischung, wobei es sich höchstwahrscheinlich um nicht näher bekannte Reaktions- oder Zersetzungprodukte handeln dürfte, da zudem die Menge an Vitamin B₁ und Natriumsaccharin abgenommen hat (9) und diese Peaks auf dem Chromatogramm der Standardsubstanzen fehlen, so wie eine intensive, fremdartige Geruchsentwicklung auftritt.

Wie ferner die durchgeführten vergleichenden Versuche bei Mischungen von essentiellen Aminosäuren mit Natriumsaccharin, Natriumcyclamat und Saccharose in fester Form bei erhöhter Temperatur zeigten, traten kaum merkliche Veränderungen im Aminosäuregehalt auf.

In der Tabelle 4 sind die Mischungen mit den vergleichsweise stärksten Abnahmen in der Aminosäuremenge bei thermischer Behandlung auf 150 °C angeführt.

Tab. 4. Prozentuale Abnahme der Aminosäuremenge bei einstündigem Erhitzen auf 150 °C.

Aminosäure-Süßstoff-Mischung	Abnahme der Aminosäuremenge in %
Phenylalanin (1,1 g) + Na-Cyclamat (3,5 g)	16
Phenylalanin (1,1) + Na-Saccharin (0,3 g)	9
Tryptophan (0,25 g) + Na-Cyclamat (3,5 g)	10
Methionin (1,1 g) + Na-Cyclamat (3,5 g)	8

Die Werte sind Mittelwerte aus 3 durchgeführten Versuchsdurchgängen.

²⁾ Dieser Versuch wurde aus analytischen Gründen mit der zehnfachen Menge des mittleren täglichen Bedarfs an Vitamin B₁ durchgeführt. Dabei zeigten sich bereits nicht unbeträchtliche Vitaminverluste, die sich bei Verwendung einer relativ geringeren Menge möglicherweise noch erhöhen könnten.

Zusammenfassung

Im Zusammenhang mit der in jüngster Zeit wieder aufgetretenen Diskussion über die Verwendung künstlicher Süßstoffe in der Ernährung des Menschen soll diese Studie eine mögliche Wechselwirkung dieser Süßungsmittel mit lebenswichtigen Nahrungsbestandteilen aufzeigen.

Es wurde im Modellfall mit Reinsubstanzen untersucht, inwieweit die künstlichen Süßstoffe Natriumsaccharin und Natriumcyclamat im Vergleich zu Saccharose einen Einfluß auf essentielle Aminosäuren und wasserlösliche Vitamine ausüben. Die Versuche mit Mischungen dieser Substanzklassen wurden sowohl in wässriger Lösung bei Raumtemperatur (25 °C) und bei 80 °C als auch in fester Form bei 120 °C und 150 °C durchgeführt. Die Einwirkungszeit betrug bei Raumtemperatur mehrere Tage, bei erhöhter Temperatur jeweils eine Stunde.

Dabei konnte eine bemerkenswerte Abnahme der Tryptophan- und Phenylalaninmenge bei Anwesenheit beider künstlichen Süßstoffe nach mehrwöchiger Lagerung bei Raumtemperatur festgestellt werden, wohingegen bei Saccharosezusatz die Aminosäuremenge kaum verändert wurde. Bei den übrigen essentiellen Aminosäuren Leucin, Isoleucin, Threonin, Methionin, Valin und Lysin sowie bei allen untersuchten, wasserlöslichen Vitaminen (Vitamin C, B₁, B₂, B₆, B₁₂ und Nicotinsäureamid) konnten hierbei keine nennenswerten Mengenverluste beobachtet werden. Bei einstündiger Einwirkung von Natriumsaccharin bei einer Temperatur von 120 °C bzw. 150 °C ließen sich Vitamin-B₁- und besonders Vitamin-C-Verluste nachweisen. Natriumcyclamat-Zusatz bewirkte unter gleichen Bedingungen etwas geringere Mengenabnahme. Keine Mengenabnahmen waren bei den Vitaminen B₂, B₆, B₁₂ und Nicotinsäureamid durch Zusatz von Süßstoffen festzustellen.

Von den essentiellen Aminosäuren (Isoleucin, Leucin, Threonin, Methionin, Phenylalanin, Lysin, Tryptophan und Valin) war nur bei Phenylalanin, Tryptophan und Methionin infolge einstündiger Hitzebehandlung auf 150 °C bei Anwesenheit von Natriumcyclamat eine bemerkenswerte Substanzreduktion zu verzeichnen. Natriumsaccharinzusatz bewirkte diesen Effekt nur bei Phenylalanin.

Summary

In connection with the discussion about the appliance of artificial sweeteners in the nutrition of mankind, which reappeared recently, this study should indicate a possible interaction between these sweeteners and essential ingredients of food.

It was examined in these model experiments with pure substances, how far the artificial sweeteners sodium saccharin and sodium cyclamate exert an influence on essential amino acids and water-soluble vitamins, compared to saccharose. The experiments with mixtures of these categories of substances were carried out both in aqueous solution at room temperature (25 °C) and at 80 °C, and in solid state at 120 °C and 150 °C. The reaction time was at room temperature several days, at increased temperature an hour each.

At these experiments a remarkable diminution of the quantity of tryptophan and phenylalanine could be noticed at the presence of both artificial sweeteners after storage of some weeks at room temperature, whereas with the addition of saccharose the quantity of the amino acids was hardly changed. There could not be found any considerable decrease of quantity with the remaining essential amino acids leucine, isoleucine, threonine, methionine, valine, and lysine as well as with all the examined water-soluble vitamins (vitamin C, B₁, B₂, B₆, B₁₂ and nicotinamide). Losses of vitamin B₁ and particularly of vitamin C could be proved during the reaction of sodium saccharin on these vitamins for 60 minutes at a temperature of 120 °C respectively 150 °C. The loss of quantity was not so high at the same conditions, when sodium cyclamate was added. The quantity did not change at all with the vitamins B₂, B₆, B₁₂ and nicotinamide at the addition of sweeteners. A notable reduction of substance could be realized from all the essential amino acids

(isoleucine, leucine, threonine, methionine, phenylalanine, lysine, tryptophan and valine) only with phenylalanine, tryptophan and methionine, resulting from treatment at a temperature of 150 °C for one hour with the presence of sodium cyclamate. The addition of sodium saccharin brought about this reduction only with phenylalanine.

Literatur

1. *Kojima, S., H. Ichibagase, S. Iguchi*: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **14**, 959 (1966).
- 2. *Dixon, R. L.*: Proc. Soc. Biol. Med. (1968).
- 3. *Sonders, R. C., R. L. Wiegand*: Tox. Appl. Pharmacol. **12**, 291 (1968).
- 4. *Kojima, S., H. Ichibagase*: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **16**, 1619 (1968).
- 5. *Agren, A., T. Bäck*: Acta Pharmaceutica Suecia **10**, 223 (1973).
- 6. *Funck, E.* (Bayer Chemie): Pharmazie **2**, 543 (1947).
- 7. *Immaiel, S. A. et al.*: Pharmazie **30**, 59 (1975).
- 8. *Kukuda, T. et al.*: Shokukin Eucigaku Zasshi **7**, 508 (1966).
- 9. *Kroyer, G., J. Washüttl*: In Vorbereitung.

Anschrift der Verfasser:

Dr. *Gerhard Kroyer*, Institut für Lebensmittelchemie und -technologie der Technischen Universität Wien, A-Wien