

Аспартамът в светлината на най-новите оценки на риска

Ст. н. с. д-р Тери Вrabчева

Ръководител направление „Храни и хранене“

Национален център по опазване на общественото здраве

Резюме

Аспартамът е ниско-калоричен, силен подсладител и е приблизително 200 пъти по-сладък от захарта. Използва се в много хранителни продукти – напитки, десерти, сладкарски и млечни продукти, дъвки, продукти за контрол на теглото и като трапезен подсладител в целия свят. Аспартамът и неговите метаболитни продукти са обект на обширни изследвания повече от 20 години. Безопасността на аспартама е оценена и потвърдена от редица национални и международни организации, като Съвместния комитет на експертите по хранителни добавки към СЗО/ФАО (JECFA), а на европейско ниво от Научния комитет по храните (SCF) и Европейския орган по безопасност на храните (EFSA). Той е оторизиран с Директива 94/35/ЕС на Европейския парламент и на Съвета и неговото използване е разрешено в повече от 90 страни. Допустимият дневен прием (ADI) на аспартама за хората е определен от JECFA (1980) и е 40 mg/kg телесно тегло/ден. През 1996 г. бе предположена връзка между нарастващата честота на мозъчни тумори в САЩ и употребата на аспартам и това предизвика нов дебат за рисковете за човешкото здраве от неговата консумация. В същото време здравните органи в редица страни реагират чрез информиране на обществеността за изследванията, налични или продължаващи, както и за данните, базирани на научни доказателства. Консумацията на аспартам при хората, дори при специални популации, като децата, страдащи от диабет, не надхвърля допустимия дневен прием. Съвременното ниво на научни знания не открива връзка между експозицията на аспартам и мозъчните тумори при хора или животни. Научният комитет по храните и по-късно Европейският орган по безопасност на храните считат, че на базата на техния

преглед на цялата налична информация до момента за хора и животни, няма доказателства, които да налагат ревизиране на заключенията от предишни оценки на риска или на допустимия дневен прием, установен по-рано за аспартама.

Ключови думи: аспартам, оценка на риска.

Abstract

Aspartame in the light of recent risk assessments

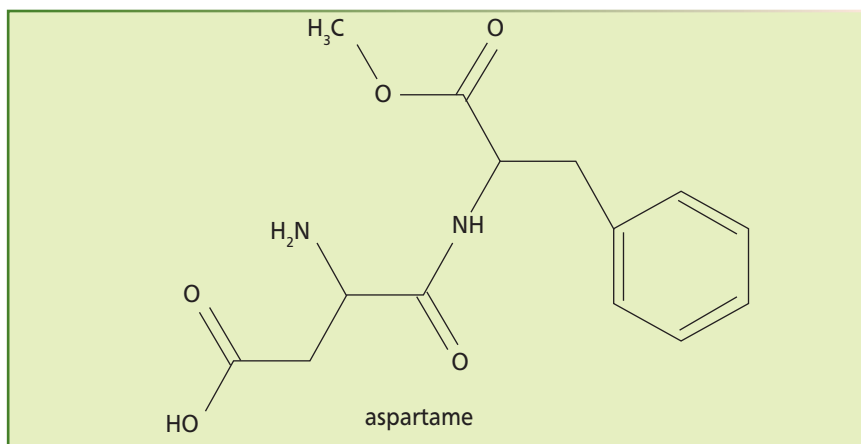
Assoc. Prof. Dr. Terry Vrabcheva

Aspartame is a low-calorie, intense sweetener and approximately 200 times sweeter than sugar. It is used in a number of foodstuffs such as drinks, desserts, sweets, dairy, chewing gums, and weight control products and as a table-top sweetener throughout the world. Aspartame and its metabolic breakdown products have been a matter of extensive investigation for more than 20 years. The safety of aspartame has been assessed and recognized by a number of national and international organizations including the FAO/WHO Committee of Experts on Food Additives (JECFA) and, at EU level, by the Scientific Committee on Food and European Food Safety Authority. It was authorized by Directive 94/35/EC of the European Parliament and of the Council on sweeteners for use in foodstuffs and its use is permitted in more than 90 countries. The Acceptable Daily Intake (ADI) of aspartame for humans was fixed at 40 mg/kg body weight/day by the JECFA (1980). In 1996 it was suggested a link between an increased incidence of brain tumors in the United States and the marketing of aspartame and this relaunched the debate on the risks

to human health posed by its consumption. At the same time, the health authorities in a number of countries have reacted by informing the public on the studies available or underway and on the data based on scientific evidence. The consumption of aspartame in humans, even in particularly exposed populations such as diabetic children, does not exceed the Acceptable Daily Intake. The current state of scientific knowledge does not enable a relationship to be established between the exposition to the aspartame and brain tumors in humans or animals. The Scientific Committee on Food and later European Food Safety Authority concluded that on the basis of their reviews of all the data in animals and humans available to date, there is no evidence to suggest that there is a need to revise the outcome of the earlier risk assessment or the ADI previously established for aspartame.

Key words: aspartame, risk assessment.

Аспартамът (E951) е използван като подсладител в храни и като трапезен подсладител повече от 20 години в много страни по света. Той е метилов естер на дипептида на две аминокиселини – фенилаланин и аспартова киселина (L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester). Представлява бял кристален прах, който има чист сладък вкус и е без мирис. Аспартамът е силен синтетичен подсладител и се използва като заместител на захарта в много ниско калорийни храни. Има същата калорийна стойност като захарта, но е около 200 пъти по-сладък от нея и поради това са необходими малки количества от него за подсла-



Фиг. 1. Химическа структура на аспартам

дяване на продуктите. Намира се още под търговското наименование „Nutrasweet“.

Аспартамът се използва в много продукти – напитки, десерти, сладкарски изделия, млечни продукти, дъвки, продукти за контрол на теглото и като трапезен подсладител. Открит е съвсем случайно от работещия за фирма „G. D. Searle & Company“ Джеймс Скълтер през 1965 г. Първоначално е предложен за одобрение в САЩ през 1974 г. за изсушени храни, впоследствие е забранено неговото използване и едва през 1981 г. американската Администрация по храни и лекарства (US Food and Drug Administration, FDA) одобрява употребата на аспартам за сухи продукти на базата на доказателства за неговата безопасност. През 1983 г. той е одобрен също за напитки и по-късно за всички видове храни. Днес аспартамът е одобрен във всички страни по света. Подсладителят е нестабилен при високи температури и не се използва при продукти, които подлежат на термична обработка.

Подсладителят и неговите разпадни продукти при метаболизма (фенилаланин, аспартова киселина и метанол) са обект на обширни изследвания повече от 20 години, включвайки експерименти върху животни, клинични изследвания, проучвания на приема, епидемиологични изследвания. След постъпване с храната в организма, аспартамът се хидролизира в лумена на гастроинтестиналния тракт. Хидролизата протича по-добре в червата под влияние на ензимите естерази и пептидази, отколкото в киселинните условия на стомаха. Процесът е доста ефективен, тъй като аспартам не се открива в кръвния поток.

Подсладителите, в това число и ас-

партама, спадат към добавките в храните, и тяхното използване в храните се контролира строго от европейското законодателство, което изисква само оторизирани добавки да се използват при производството или приготвянето на храни. Всяка нова добавка, която изисква оторизиране в Европейския съюз, трябва да премине през задълбочена оценка за безопасност в Европейския орган по безопасност на храните (EFSA). Преди създаването на EFSA през 2002 г. тази функция се изпълняваше от Научния комитет по храните (SCF) към Европейската комисия.

Производителят на нова добавка трябва не само да докаже, че има реална нужда от тази добавка, но също трябва да приложи научни изследвания върху това вещество. Изследванията трябва да включват токсикологични тестове, в това число тестове за оценка на генотоксичния потенциал на веществото. След направената оценка за безопасност на новата добавка от EFSA, тя се включва в т. нар. „позитивен списък“ на ЕС за одобрените добавки. Ако има някакви съмнения относно безопасността на добавката, тогава това вещество не се одобрява и не се включва в „позитивния списък“ на ЕС. EFSA нито разрешава, нито забранява използването на добавки в храни. Органът дава оценка на риска, а решенията за използването на добавките е отговорност на управляващите риска в Европейската комисия, Парламента на Европа и страните-членки на ЕС.

Аспартамът е бил оторизиран за използване и включен в „позитивния списък“ на ЕС на одобрените добавки след задълбочена оценка за безопасност. Той е бил оценяван от Научния комитет по храните (SCF) през 1984, 1988 и 2002 г. и

през последните 2006 и 2009 г. от EFSA. Двете последни оценки за безопасността на аспартама, направени от EFSA, са провокирани от две нови изследвания върху неговата канцерогенност, извършени от Европейската фондация Ramazzini, със седалище Болоня, Италия.

Аспартамът е бил оценяван за безопасност и от други регулаторни органи, като Съвместния комитет на експертите по хранителните добавки към СЗО/ФАО (JECFA), от английската Агенция по хранителни стандарти (UK Food Standards Agency), а също от американската Администрация по храни и лекарства (US Food and Drug Administration, FDA).

Максималните нива, при които добавките, в това число и аспартама, могат да бъдат използвани, а също и специфичните продукти, в които те могат да бъдат влагани, са също регламентирани от Европейското законодателство. Тези нива представляват стойностите, които гарантират, че човек на обичайна диета няма да надхвърли допустимия дневен прием – acceptable daily intake (ADI), установен за съответната добавка. Съгласно определението на Съвместния комитет на експертите по хранителните добавки към СЗО/ФАО (JECFA) под acceptable daily intake се разбира „количеството от хранителната добавка, отнесено към килограм телесно тегло, което може да бъде приемано всекидневно в продължение на целия живот без риск за здравето“. В случая с подсладителите, като аспартама, нивата са такива, че да предпазят особено застрашените групи от населението, като диабетиците, които трябва да избягват храни и напитки, съдържащи захар, както и децата, за които е известно, че консумират по-големи количества напитки, като газирани. Допустимият дневен прием (ADI) за аспартама е 40 mg/kg телесно тегло/ден и е определен от Съвместния комитет на експертите по хранителните добавки към СЗО/ФАО (JECFA) и бе потвърден отново в становищата на Научния комитет по храните (SCF) към Европейската комисия през 1985, 1989, 1997 и 2002 г.

Средният изчислен прием на аспартам по света е под 5 mg/kg телесно тегло/ден, най-висока стойност от 13.3 mg/kg телесно тегло/ден се съобщава в САЩ, Magnuson et al. (2007).⁷ Тези изчисления са направени по няколко начина, включи-

телно сценарий с висок прием, който идва от напитки, съдържащи аспартам при максимум разрешени нива. Повечето автори съобщават, че при този сценарий само малък процент от населението би надхвърлило допустимия дневен прием – Illback et al. (2003).⁶ Също така, изчисления на приема на аспартам са посочени в доклада на Европейската комисия върху хранителния прием на добавките от 2004 г., използвайки подхода „Tier 2“.⁴ Този подход означава оценка на нивата в отделните страни-членки, комбинирайки националните данни за хранителна консумация с максимално разрешените нива на използване на добавките. В този доклад максимален прием от 40% от ADI е изчислен за Холандия и Великобритания.

През 2002 г. Научният комитет по храните⁹ към Европейската комисия направи заключение, че големите консуматори (деца и възрастни) е малко вероятно да надминат допустимия дневен прием от 40 mg/kg телесно тегло/ден за аспартама. Приемът при диабетичите, за които се предполага, че са големи консуматори на храни, съдържащи аспартам, е също доста по-нисък от ADI. EFSA (2009) също потвърди липсата на индикации, че популационните групи надминават допустимия дневен прием за аспартама.

Повечето от изчисленията на приема се базират на употребата само на безалкохолни напитки, тъй като те са основният източник на аспартам. В Холандия хранителният анализ на продуктите показва присъствие на аспартам в разтворимите напитки, лимонадите, йогурт и витаминните суплементи. Концентрациите на аспартам са изчислени така, че достигат една десета от максимално разрешените нива, с изключение на витаминните суплементи, които са съдържали средни нива от 6.4 mg/g, надхвърляйки максимално разрешеното ниво от 5.5 mg/g (van Rooij-van den Bos et al. 2004).²⁰ Безалкохолните напитки съдържат приблизително 25% от максимално разрешеното ниво.

Малка група от хора не могат безопасно да консумират аспартама. Те страдат от вродено генетично заболяване, наречено фенилкетонурия, при което организмът не може да метаболизира аминокиселината фенилаланин поради липса или недостиг на ензима фенилала-

нинхидроксилаза. Това води до натрупване на потенциално опасни нива от някои разпадни продукти. Честотата на това сериозно метаболитно заболяване в България е 1:45 000. Заболяването се проявява в ранна кърмаческа възраст и се изразява в неспокойствие, повръщане, екзема, мален мускулен тонус, урината има миша миризма, гърчове се появяват след 6-месечна възраст. Диагностицира се скоро след раждане чрез рутинен кръвен тест. Тъй като аспартамът е също източник на фенилаланин, всички продукти, съдържащи аспартам, трябва да бъдат ясно етикетирани с думите „съдържа източник на фенилаланин“. Така хората, страдащи от фенилкетонурия, могат да избягват консумацията на такива продукти.

Всички одобрени добавки в храните се следят от регулаторните органи и когато се появи нова научна и медицинска информация относно възможни вредни ефекти, започва нова процедура по оценка на безопасността. Във връзка с аспартама, през последните години се появила редица съобщения, които насочиха към вредни въздействия на подсладителя и риска от неговата употреба:

- възможна токсичност от метанола и неговия метаболит формалдеhid;
- повишение в плазмените концентрации на фенилаланин и аспартова киселина, което може да доведе до увеличен транспорт на тези аминокиселини в мозъка, увреждайки неврохимичния състав на мозъка;
- възможност за невроендокринни промени и по-специално увеличени концентрации в мозъка, синаптичните ганглии и медулата на катехоламините, получени от фенилаланина и неговия хидроксилиран продукт – тирозин;
- възможна връзка на аспартама с епилепсията и мозъчните тумори (SCF, 2002).⁹

Също така бе предположено, че консумацията на аспартам може да бъде свързана с развитието на сериозни заболявания, като множествена склероза, lupus erythematodes, Gulf War syndrome, синдром на хроничната умора и diabetes mellitus. Въсщност повечето от тези предположения са несериозни и няма реални научни доказателства, които да показват, че аспартамът е отговорен за тези състояния.

Метанолът, който се отделя при метаболизма му, е 10% от теглото на аспартама. Той от своя страна метаболизира във формалдеhid, мравчена киселина и CO₂. Един литър „диетична“ напитка, съдържаща аспартам, образува приблизително 48 mg метанол, докато литър плод или зеленчуков сок съдържа приблизително от 200 до 280 mg метанол. Това показва, че количествата метанол, отделяни при метаболизма на аспартама, са по-малки от тези, отделяни от някои естествени храни (Maheer, 1986).⁸ При хората е необходимо поглъщането на метанол в количества 200–500 mg/kg телесно тегло, за да се проявят токсичните ефекти върху зрението и централната нервна система. Тези дози са повече от 100 пъти по-големи от максималната доза метанол, получавана при метаболизма на аспартама.

Parthasarathy и съавт.^{10, 11} при изследвания in vivo описват влияние на метаболита на аспартама – метанол, върху органи, тъкани, клетки и функцията на имунната система. Според Работната група от експерти по аспартама към EFSA тези наблюдения по-вероятно се дължат на индиректния стрес-ефект от използваните високи нива на метанол. Тези високи нива не са били релевантни на експозицията от аспартама.

Съобщения за възможни въздействия на аспартама върху функцията на мозъка включват директни и индиректни клетъчни ефекти на подсладителя или неговите метаболити върху нервната система, включително невротоксични и функционални аспекти. Особено сензационни са съобщенията за връзка на аспартама с появата на мозъчни тумори, главоболие, алергии, промени в поведението и настроението.

Няколко от изследванията, направени in vitro или in vivo, показват, че аспартамът или неговите метаболити могат да повлияват някои ензимни активности в мозъка, като ацетилхолинестеразата (Simintzi et al.^{13, 14}), Na⁺/K⁺-АТФ-аза (Christian et al.,³ Simintzi et al.¹⁵), цитохром P450 (CYP) ензимите (Tutelyan et al.¹⁹). Работната група от експерти по аспартама към EFSA счита, че значението и биологичната релевантност на тези изследвания не са ясни. Необходимо е продължаване на наблюденията и нови научни доказателства в тази посока. Същото заключение е направено и по отношение на възможното

влияние на аспартама върху поведението, настроението, склонността към припадъци. На този етап няма достатъчно доказателства, че аспартамът може да предизвиква такива състояния, както бе установено и от SCF през 2002 г.

Влиянието на аспартама върху апетита и усещането за ситост е разгледано през последните години от Appleton и Blundell (2007),² Reid и съавт. (2007),¹² Appleton и съавт. (2004),¹ Van Wymelbeke и съавт. (2004).²¹ В тези проучвания обаче аспартамът е част от смес от подсладители и няма данни за негово самостоятелно действие върху апетита и телесното тегло.

През 80-те години единични съобщения предполагат, че аспартамът може би има връзка с алергичен тип реакции. Клинични наблюдения обаче показват, че когато такъв тип алергични реакции са били проследени при контролирани условия, аспартамът не е по-вероятният причинител на реакциите в сравнение с плацебо. Научни доказателства демонстрират, че е малко вероятно аспартамът да е свързан с алергичен тип реакции в експериментални модели или при хората. Няма съобщения за поява на хранителен интолеранс, който да е предизвикан от приема на аспартам. Следователно EFSA счита, че няма нови доказателства, публикувани след 2002 г., които да изискват преоценка на съществуващото становище на Научния комитет по храните (SCF), съгласно което „изследвания върху алергичен тип реакции при индивиди, които свързват тези реакции с аспартама, не са потвърдени при по-късни изследвания в контролирани условия“.⁹

Във връзка с всички съобщения за възможни вредни здравни ефекти, свързани с консумацията на аспартам, Научният комитет по храните публикува през 2002 г.⁹ ново становище върху безопасността на аспартама, вземайки предвид повече от 500 изследователски съобщения, направени в периода от 1988 до 2001 г. На базата на всички тези прегледани съобщения, Комитетът заключи, че няма нужда от ревизиране на по-ранните оценки на риска от 1984 и 1988 г. и няма необходимост от промяна на вече установения допустим дневен прием, който е 40 mg/kg телесно тегло/ден.

Най-много дискусии предизвиква въпроса за възможния канцерогенен и генотоксичен потенциал на аспартама. В публикуваното становище на SCF през

2002 г.⁹ се казва: „имайки предвид всички изследвания, проучени до момента, честотата на спонтанните тумори при лабораторни плъхове, типа наблюдавани тумори, както и отсъствието на връзката „доза-отговор“, аспартамът няма канцерогенен потенциал върху мозъка на експериментални животни“. Относно генотоксичността SCF (2002) счита, че аспартамът не е генотоксичен, не предизвиква мутагенен риск и няма кластогенен потенциал.

През 2005 г. Европейската фондация Ramazzini, която е научен институт, занимаващ се с изследвания върху рака, публикува резултатите от ново проучване върху канцерогенността на аспартама при експериментални животни. Авторите на това изследване разглеждат на базата на техните резултати възможен канцерогенен потенциал на аспартама. Плъхове, захранвани с аспартам, в течение на живота си, са развивали рак в различни органи, в това число на кръвните клетки, бъбреците и периферните нерви. По искане на Европейската комисия през 2006 г. EFSA оцени публикуваните съобщения от това проучване, заедно с обширните данни, изпратени на EFSA от фондацията, както и други изследвания по въпроса и предишните оценки върху безопасността на аспартама. EFSA внимателно и задълбочено изследва цялата получена информация и заключи, че изследването на Европейската фондация Ramazzini не предизвиква безпокойство относно възможни здравни ефекти за консуматора от аспартама. EFSA откри множество проблеми в изследването на фондацията, които затрудняват интерпретацията на резултатите. Бе установена висока фоновата честота на хронични възпалителни заболявания на белите дробове и на други органи във всички групи животни, включително тези, които не са получавали аспартам. Това се разглежда като основен фактор на изкривяване. Лекото повишение в честотата на раковите заболявания, като лимфоми и левкемии в третираните плъхове, се счита за несвързано с аспартама и вероятно се дължи на високата фоновата честота на възпалителни промени в белия дроб. Освен това не се наблюдава връзка „доза-отговор“ по отношение на увеличаваните дози аспартам. На базата на тази оценка EFSA реши, че няма причина за допълнително изследване на безопасността на

аспартама, както и за ревизиране на допустим дневен прием от 40 mg/kg телесно тегло/ден, установен от SCF. EFSA също така съобщи, че приемът на аспартам в редица европейски страни не надхвърля 10 mg/kg телесно тегло/ден и е доста по-нисък от допустимия дневен прием, дори при големите консуматори.

През 2007 г. Cesare Maltoni Cancer Research Center към Европейската фондация Ramazzini публикува резултати от дългосрочно изследване върху канцерогенността на аспартама при пренатална експозиция (Soffritti и съавт.¹⁸). Авторите считат, че резултатите от това проучване не само потвърждават техните предишни наблюдения, но дори подсилват първите експериментални демонстрации, публикувани през 2005¹⁶ и 2006 г.,¹⁷ според които аспартамът проявява мултипотенциална канцерогенност при нива, близки до допустимия дневен прием при хората. Основавайки се на резултатите от това изследване, авторите постулират, че когато експозицията към аспартама започне по време на феталното развитие, неговите канцерогенни ефекти нарастват. Използваните концентрации в диетата на плъховете са били 400 и 2000 mg аспартам/kg диета, което е еквивалентно на 20 и 100 mg аспартам/kg телесно тегло/ден. Плъховете са били експонирани на аспартам от 12 ден на бременността до естествената смърт. Авторите съобщават значима дозо-зависима връзка и значително нарастване честотата на лимфомите и левкемиите особено при плъховете, приемащи високи дози аспартам. При женските плъхове отчитат висока честота на карциноми на мамилата.

По искане на Европейската комисия това изследване беше също оценено от EFSA, като бе наблегнато на релеванността на съобщените находки към човешкото здраве. EFSA поиска още данни от фондацията през 2007 и 2008 г., които получава през февруари 2009 г. Заключение на EFSA бе, че на базата на всички налични до момента данни, включително и последните, публикувани от Фондация Ramazzini, няма индикации за някакъв генотоксичен или канцерогенен потенциал на аспартама. По тази причина няма необходимост от ревизиране на установения вече допустим дневен прием от 40 mg/kg телесно тегло/ден.

EFSA сформира група от известни ев-

ропейски експерти по безопасните аспекти на аспартама, която в няколко поредни работни срещи разгледа цялата нова информация за токсичността на аспартама, излязла след 2002 г. Тази група от национални експерти не открива никакви големи пропуски в информацията, които спешно се нуждаят от запълване. Препоръчва се проследяване на нови данни по отношение на метаболизма на аспартама, неговото възможно действие върху функцията на мозъка и чувството за ситост. Групата от експерти не идентифицира никакви нови доказателства, въз основа на които да препоръча на EFSA преразглеждане на предишните становища на SCF от 2002 г.⁹ и на EFSA от 2006 г.⁵

Аспартамът е бил оценяван за безопасност и от Съвместния комитет на експертите по хранителните добавки към СЗО/ФАО, от американската Администрация по храни и лекарства, както и от английския Комитет по канцерогенност на химикали в храни, продукти за консумация и околната среда (UK Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, COS). FDA прегледа всички оплаквания, отнесени към вредните ефекти на продукти, съдържащи аспартам след 1985 г., но не успя да намери никаква връзка между симптомите и употребата на аспартам. Също така FDA съобщи, че анализът на базата данни на Националния институт по рака (National Cancer Institute) за разпространението на раковите заболявания в САЩ не потвърждава никаква връзка между използването на аспартама и увеличената честота на тумори на мозъка, заключение, което бе направено и от Научният комитет по храните.

Книзопис

1. Appleton KM, Rogers PJ, Blundell JE, 2004. Effects of a sweet and non-sweet lunch on short term appetite: differences in female high and low consumers of sweet/low-energy beverages. *J Hum Nut Diet.* 17, 425–434.

2. Appleton KM and Blundell JE, 2007. Habitual high and low consumers of artificially- sweetened beverages : Effects of sweet taste and energy on short-term appetite. *Physiol. & Behav.* 92, 479–486.

3. Christian B, McConnaughey K, Bethea E, Brantley S, Coffey A, Hammond L, Harrel S, Metcalf K, Muehlenbein D, Spruill W, Brinson L, McConnaughey M, 2004. Chronic aspartame affects T-maze performance, brain cholinergic receptors and Na⁺/K⁺-ATPase in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour* 78, 121–127.

4. European Commission Report on Dietary Food Additive Intake in the European Union 2004. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf

5. European Food Safety Authority, 2006. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to a new long-term carcinogenicity study on aspartame. Question number EFSA-Q-2005-122. *The EFSA Journal*, 356 1–44.

6. Illback NG, Alzin M, Jahrl S, Enghardt-Barbieri H, Busk L 2003. Estimated intake of the artificial sweeteners acesulfame-K, aspartame, cyclamate and saccharin in a group of Swedish diabetics. *Food Additives and Contaminants* 20, 99–114.

7. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Panza W, Spencer PS, Wadell WJ, Wilker R, Williams GM, 2007. Aspartame: A safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Critical Reviews in Toxicology* 37(8), 629–727.

8. Maher TJ, Neurotoxicology of food additives. *Neurotoxicology*, 1986, 7(2), 183–196.

9. Opinion of the Scientific Committee on Food: Update on the safety of aspartame. *European Commission*, 10 December 2002.

10. Parthasarathy NJ, Kumar RS, Manikandan S, Narayanan GS, Kumar RV, Devi RS, 2006. Effect of methanol-induced oxidative stress on the neuro-immune system of experimental rats. *Chem Biol Interactions* 161, 14–25.

11. Parthasarathy, NJ, Srikumar R, Manikandan S, Narayanan GS, Devi RS, 2007. Effect of methanol intoxication on specific immune functions of albino

rats. *Cell Biology and Tox*, 23, 117–187.

12. Reid M, Hammersley R, Hill AJ, Skidmore P, 2007. Long-term dietary compensation for added sugar: effects of supplementary sucrose drinks over a 4-week period. *Br J Nut* 97, 193–203.

13. Simintzi I, Schulpis KH, Angelogianni P, Liapi C, Tsakiris S, 2007. The effect of aspartame metabolites on the suckling rat frontal cortex acetylcholinesterase. *An in vitro study. Food Chem Toxicol* 45, 2397–2401 (a).

14. Simintzi I, Schulpis KH, Angelogianni P, Liapi C, Tsakiris S, 2007. The effect of aspartame on acetylcholinesterase activity in hippocampal homogenates of suckling rats. *Pharmacological Research* 56, 155–159 (b).

15. Simintzi KH, Schulpis P, Angelogianni C, Liapi S, Tsakiris S, 2008. L-Cysteine and glutathione restore the modulation of rat frontal cortex Na⁺, K⁺-ATPase activity induced by aspartame metabolites. *Food and Chemical Toxicology* 46 2074–2079.

16. Soffritti M, Belpoggi F, Esposito DD, Lambertini L, 2005. Aspartame induces lymphomas and leukaemias in rats. *Eur J Oncol.* 10, 107–116.

17. Soffritti M, Belpoggi F, Esposito DD, Lambertini L, Tibaldi E, Rigano A, 2006. First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to sprague-dawley rats. *Env Health Pers.* 114, 379–385.

18. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E, Esposito DD, Lauriola M, 2007. Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. *Environ. Health Perspect* 115, 1293–1297.

19. Tutelyan VA, Kravchenko LV, Kuzmina EE, 1990. The effect of aspartame on the activity of rat liver xenobiotic-metabolizing enzymes. Drug metabolism and Disposition: *The Biological Fate of Chemicals* 18, 223–225.

20. van Rooij-van den Bos, Konings EJM, Heida P, van Hamersveld ICM, van der Wielen J, Kooijman M, 2004. Onderzoek naar de kunstmatige zoetstoffen Sacharine, Aspartaam, Acesulfaam-K en Cyclamaat in levensmiddelen. Dutch Food and Consumer Product Safety Authority 2004.

21. van Wymelbeke V, Béridot-Thérond M-E, de La Guéronnière V, Fantino M, 2004. Influence of repeated consumption of beverages containing sucrose or intense sweeteners on food intake. *Eu J Clin Nut.* 58, 154–161.