Određivanje sadržaja kofeina i taurina u energetskim napicima i dijetetskim proizvodima HPLC tehnikom

Tatjana Nedeljković¹,
Zoran Pavlović²,
Sanda Dilber³,
Slađana Šobajić⁴,
Danica Michaličkova⁵,
Brižita Đorđević⁴

¹Institut za javno zdravlje Srbije - "Dr Milan Jovanović Batut", Milana Subotića 3, 11 000 Beograd

²Zavod za javno zdravlje Požarevac, Jovana Šerbanovića 14, 12 000 Požarevac

³Katedra za organsku hemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd

⁴Katedra za bromatologiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd

⁵Institut za farmakologiju, Prvi medicinski fakultet, Karlov univerzitet, Albertov 4, Prag, Republika Češka

Rad primljen: 14.02.2017.

Autor za korespondenciju:

Brižita Đorđević, Katedra za bromatologiju, Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, e-mail: brizitadjordjevic@gmail.com

Kratak sadržaj

Uvod Kofein i taurin spadaju u ergogena sredstva koja se koriste u populaciji profesionalnih sportista. Međutim, poslednjih godina koristi ih i šira populacija primenom dijetetskih proizvoda, kao i energetskih pića.

Cilj Deklarisane količine kofeina i taurina često se ne podudaraju sa stvarnim količinama koje se nalaze u proizvodima na tržištu. Zbog toga je potrebno utvrditi njihov stvarni sadržaj u proizvodima, kao i proceniti unos ovih fiziološki aktivnih supstanci.

Metod rada U ovom radu su predstavljeni rezultati analize sadržaja kofeina i taurina u odabranim proizvodima sa tržišta. Za određivanje taurina i kofeina u dijetetskim proizvodima i energetskim napicima korišćena je HPLC-DAD tehnika.

Rezultati i diskusija Sadržaj kofeina i taurina u svim ispitivanim energetskim pićima nije bio veći od deklarisanog, ali su značajno niže vrednosti uočene u najvećem broju uzoraka (odstupanja za kofein i do 40%, za taurin čak do 90%). U 57% ispitivanih dijetetskih suplemenata dobijene vrednosti sadržaja kofeina značajno je prelazio deklarisanu vrednost, a kod 28% sadržaj nije ni deklarisan. Kod 50% dijetetskih suplemenata koji sadrže taurin deklaracija ne sadrži podatak o količini ove supstance, a u uzorcima deklariranim vrednostima uočena su i značajno niže vrednosti. Procenjen dnevni unos kofeina iz analiziranih energetskih napitaka i suplemenata nije prevazilazio vrednosti koje su procenjene kao bezbedne, ali obzirom da je kofein sastojak koji je prisutan u brojnim namirnicama, kao i lekovima, procenjene količine predstavljaju zabrinjavajući podatak.

Zaključak Neophodno je vršiti rigorozniju kontrolu sadržaja kofeina i taurina u dodacima ishrani, ali i uvesti u rigorozniju zakonsku regulativu u pogledu prometa dijetetskih proizvoda.

Ključne reči: kofein, taurin, HPLC, energetska pića, dijetetski suplementi

UVOD

Energetska pića i dodaci ishrani koji sadrže kofein i taurin veoma su popularna, posebno među mladima, te je njihova potrošnja u poslednjih dvadeset godina beležila konstantan rast. Obe supstance mogu dovesti do pojave neželjenih efekata pri konzumiranju većih količina, te se vrše pokušaji da se količina ovih supstanci u pićima i dodacima ishrani, kao i način korišćenja ovih proizvoda bolje regulišu i kontrolišu.

Kofein (1,3,7-trimetilksantin) je alkaloid prisutan u više desetina biljaka, a u većim količinama nalazi se u zrnu kafe, listovima čaja kao i u zrnu kakaa [1]. On stimulatивно utiče na centralni nervni sistem. Metilksantinski metaboliti kofeina dovode do pojačanog oslobađanja dopamina, adrenalina i serotonina u mozgu, koji rezultuju povećanom budnošću, poboljšanjem raspoloženja, ali i tahikardijom. Pretpostavljeni mehanizam dejstva kofeina je inhibicija vezivanja adenoza (signala zamora) za receptor, tj. sprečavanje signaliziranja umora u mozgu. Posledica toga je održavanje povišene aktivnosti neurona, čak i kada su oni energetski iscrpljeni [2-4]. Simptomi trovanja kofeinom mogu da uključe nemir, nervozu, anksioznost, uzbuđenje, nesanicu, crvenilo lica, povećanu diurezu, gastrointestinalne poremećaje, razdražljivost, ubrzan ili nepravilan rad srca, kao i psihomotornu agitaciju

[5,6]. Akutna intoksikacija može kod pojedinaca nastati i pri unosu od 400-500 mg kofeina, što se inače smatra srednjim unosom kofeina za veći deo populacije [7]. Sa druge strane, postoje brojne studije koje ukazuju na pozitivnu vezu između umerenog konzumiranja kafe i smanjene incidence od pojedinih oblika maligniteta i kardiovaskularnih bolesti (KVB) [1]. Pojedine naučne grupe dale su preporuke za unos kofeina u različitim populacionim grupama. Tako je, na primer, Nawrot sa sar. u ime kanadskih stručnjaka zaključio da za opštu populaciju odraslih osoba umeren unos kofeina od 400 mg dnevno nije povezan sa ozbiljnijim neželjenim efektima, mada autori izdvajaju vrednost od 3 mg/kg telesne mase (TM) dnevno iznad koje se može pojaviti uznemirenost. Isti autori za decu predlažu gornji nivo bezbednog unosa od 2,5 mg/kg telesne mase [8]. U nordijskim zemljama unos kofeina od 2,5 mg/kg TM je procenjen kao najniža doza sa potencijalno nepovoljnim efektima kod dece (uznemirenost, poremećaj sna i razvoj tolerancije) [9]. U 2015. godini Evropska agencija za bezbednost hrane (EFSA) je izdala mišljenje da pojedinačna doza od 200 mg kofeina ne predstavlja bezbedonosni rizik, kao ni dnevna količina od 400 mg, dok se kod trudnica i dojilja bezbednim smatra dnevni unos od 200 mg kofeina [10]. Količina kofeina u energetskim pićima je u našoj zemlji limitirana na 320 mg/l, dok količina u dodacima ishrani nije limitirana [11,12].

Određen broj energetskih pića i dijetetskih proizvoda sadrži i taurin, često u kombinaciji sa kofeinom. Taurin je supstanca koja je nazvana po latinskoj reči *taurus* (lat. bik), pošto je prvi put izolovan iz goveđe žuči. U hemijskom smislu, taurin nije prava amino-kiselina, s obzirom da ne poseduje karboksilnu, već amino i sulfidnu grupu. Međutim, u naučnoj literaturi, taurin se svrstava u amino-kiseline [1,14]. Taurin se nalazi u centralnom i perifernom nervnom sistemu, mišićima, jetri, bubrežima, krvi i mleku. Biosinteza taurina se odvija u pankreasu, a najviše ga ima u mozgu i jetri. Glavna uloga taurina je u sintezi žučnih kiselina, odnosno digestiji lipida. Višak taurina u organizmu se izlučuje urinom [15]. Ima podataka da je značajan u stabilizaciji ćelijskih membrana i srčanih ćelija, da učestvuje u regulaciji homeostaze kalcijuma, osmoregulaciji, pokazuje protektivni efekat kod ishemičnih srčanih oboljenja i poseduje imunomodulatorne osobine. Kod osoba obolelih od šećerne bolesti izmenjen je metabolizam taurina i njegove smanjene koncentracije se dovode u vezu sa mikroangiopatijom, stanjem koje prati šećernu bolest [15]. Taurin prolazi krvno-moždanu barijeru, gde je uključen u mnoge fiziološke procese. Takođe, deluje kao antioksidans i štiti od toksičnosti različitih supstanci (npr. olovo i kadmijum). Taurin je prisutan u majčinom mleku, a pored toga, dodaje se u formule mleka za odojčad. Prevrneno rođena deca imaju manjak taurina. Taurin se prirodno nalazi u hrani, naročito u plodovima mora i mesu. Prosečan dnevni unos hranom iznosi 58 mg kod omnivora, dok su kod ljudi na strogoj veganskoj ishrani, to zanemarljive količine [15]. Taurin se često koristi kao sastojak u energetskim pićima, u količini od 1000-2000 mg po serviranju. Prema studiji EFSA iz 2003. godine, nisu pronađene štetne posledice po zdravlje za unos do 1000 mg taurina po kilogramu telesne mase dnevno, međutim ovi podaci su dobijeni u istaživanjima u kojima je vršena suplementacija samo taurinom [16-18]. U novijem EFSA ekspertskom mišljenju koje je izdala EFSA procenjeno je da kombinacija uobičajenih sastojaka u energetskim napicima (uobičajne količine 300-320 mg/L kofeina, 4000 mg taurina i do 2400 mg D-glukuronogama-laktona) ne pokazuje štetne zdravstvene efekte [10]. Količina taurina

u energetskim pićima je u našoj zemlji limitirana na 4000 mg/l, dok u dodacima ishrani količina taurina nije ograničena [12,13].

Uobičajeno, u svakodnevnom životu, ljudi konzumiraju kafu, čaj ili zeleni čaj i tako unose kofein. Takođe, unosom namirnica životinjskog porekla unose taurin koji je prisutan u mesu i drugim namirnicama. Konzumiranjem energetskih pića i suplemenata koji sadrže kofein ili taurin, njihov unos se višestruko povećava, pri čemu treba imati u vidu da su količine kofeina i taurina u energetskim pićima obično na polovini procenjenog bezbednog dnevnog unosa. Ono što najviše zabrinjava javnost, a posebno roditelje, konzumiranje je energetskih pića i navedenih dodataka ishrani kod dece mlađe od 18 godina. Upozorenje na deklaraciji „ne preporučuje se deci mlađoj od 18 godina“, može delovati i suprotno na adolescencu, čak i kao reklama. Zbog toga je osnovni cilj ovog rada određivanje sadržaja kofeina i taurina u energetskim pićima i dijetetskim namirnicama sa tržišta Republike Srbije, kao i procena njihovog dnevnog unosa, koji bi se ostvario praćenjem preporuke proizvođača.

MATERIJAL I METODE

Uzorci za ispitivanje sadržaja taurina i kofeina bili su energetska pića i dodaci ishrani (dijetetski suplementi). Energetska pića izabrana su slučajnim uzorkovanjem u maloprodajnim objektima u Beogradu, a dijetetski suplementi u apotekama i specijalizovanim prodavnicama. Izvršena je analiza 10 uzoraka energetskih pića, 7 uzoraka dijetetskih suplemenata koji sadrže kofein i 6 uzoraka dijetetskih suplemenata koja u svom sastavu imaju taurin. U Tabeli 1 su prikazane osnovne karakteristike proizvoda i preporučeni ili maksimalni dnevni unos kako je naveden na deklaraciji.

Sadržaj kofeina u uzorcima određen je metodom tečne hromatografije sa DAD detektorom (diode array detector) [19]. Uzorci energetskog pića pripremljeni su degaziranjem i razblaživanjem deionizovanim vodom u odnosu 1:10. Uzorci dodataka ishrani sa kofeinom

Tabela 1: Osnovne karakteristike analiziranih uzoraka energetskih napitaka i suplemenata

Naziv uzorka – energetski napitak	Zapremina limenke (ml)/ preporuka za maks. dnevni unos (ml)	Naziv uzorka – suplement	Preporučeni dnevni unos
Booster®	250 / 1000	Guarana®, kapsule	2 kapsule
Sinalco energy®	330 / 500	GrenadeThermoDetonator®, kapsule	3 kapsule
Burn®	250 / 500	Medgum® energy, žvake	2 žvake
Excess®	330 / 1000	MegaFit formula®, kapsule	1 kapsula
Guarana®	250 / 500	Assault®, prah	1 merica (22 g)
Guarana mojito®	250 / 500	Thermoxxtreme HCultra®, kapsule	4 kapsule
Ultra Orange®	250 / 500	Caffeine®, kapsule	2 kapsule
Ultra Original®	250 / 500	KyaniSunrise®, gel	1 kesica
Red Bull®	250 / 500	SuperCharge Xtreme®, prah	28 g
Doctor Night®	330 / 1000	SuperPump MAX®, prah	48 g
		Orthomol®Diabet, kapsule	3 kapsule
		Assault®, prah	46 g
		Taurine®, kapsule	3 tablete

pripremljeni su ekstrakcijom vodom i razblaživanjem.

Uslovi tečno-hromatografske analize za kofein:

- kolona C18, 5 µm, 150 x 4,6 nm
- temperature kolone: 20°C
- injekciona zapremina: 10 µl
- mobilna faza: acetonitril-voda (20:80)
- brzina protoka mobilne faze 1 ml/min
- detektor: DAD na talasnoj dužini od 272 nm.

Sadržaj taurina u uzorcima određen je metodom tečne hromatografije sa fluorescentnim detektorom, koja se izvodi nakon derivatizacije prisutnog taurina sa OPA (o-ftalaldehid) reagensom [20]. Uzorci energetskog pića pripremani su degaziranjem i razblaživanjem. Uzorci dijetetskih suplemenata sa taurinom pripremani su ekstrakcijom vodom i razblaživanjem.

Uslovi tečno-hromatografske analize za taurin:

- kolona Luna 5µm C8, 100A, 150 x 4,6 nm
- temperature kolone: 20°C
- injekciona zapremina: 50 µl
- mobilna faza: 0,1% vodeni rastvor trifluorosirćetne kiseline (TFA)/metanol (50:50),
- protok mobilne faze: 0,70 ml/min,
- fluorescentni detektor (ekscitacija na 340 nm, emisija na talasnoj dužini od 475 nm).

Kalibracija i ocenjivanje adekvatnosti primenjenih analitičkih metoda izvedena je primenom SRPS ISO 8466-1:1994 [21]. Za formiranje kalibracione krive kofeina korišćen je standard kofeina (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Nemačka) u rasponu koncentracija 5-50

mg/l, $r^2=0,998$, $LoD=0,28$ mg/l, $LoQ=0,76$ mg/l, RSD testa preciznosti = 1,17%, recovery = 97,4-99,1%. Za formiranje kalibracione krive taurina korišćen je standard taurina (Merck Schuclardt, Nemačka) u rasponu koncentracija 2-12 mg/l, $r^2=0,998$, $LoD=0,27$ mg/l, $LoQ=1,57$ mg/l, RSD testa preciznosti = 1,45%, recovery = 97,4-99,0%.

Rezultati u tabelama su prikazani kao srednje vrednosti tri određivanja za isti uzorak sa standardnom devijacijom. Statistička obrada podataka je vršena korišćenjem programa Microsoft Excell.

REZULTATI I DISKUSIJA

U Tabeli 2 prikazane su koncentracije kofeina i taurina u uzorcima energetskih pića. Uporedno su prikazane vrednosti dobijene analizom, deklarisanе vrednosti i procenat odstupanja od deklarisanih vrednosti. Ukupno je analizirano 10 energetskih napitaka u kojima je deklarisan sadržaj kofeina iznosio 250 ili 320 mg/l. Vrednosti za stvarni sadržaj kofeina i taurina bile su niže od deklarisanih vrednosti u 8 od ukupno 10 ispitivanih uzoraka energetskih napitaka. Ipak, ni u jednom uzorku nije nađeno prekoračenje deklarisanih vrednosti. Vrednosti za kofein kretale su se u rasponu 60-100% deklarisanih vrednosti. Svi ispitani uzorci energetskih napitaka su pored kofeina sadržali i taurin. Deklarisana količina taurina u svim proizvodima iznosila je 4000 mg/l. Određeni dnevni unos taurina je takođe odstupao od deklarisanih vrednosti i nalazio su se u rasponu 7,7-99,5% deklarisanih vrednosti. Kod dva analizirana uzorka uočena su značajna odstupanja od deklarisanih vrednosti za obe supstance.

U Tabeli 3 prikazani su rezultati određivanja sadržaja kofeina i taurina u dijetetskim suplementima. Kofein je često zastupljen u dodacima ishrani, u svrhu otklanjanja umora, dok se u sportskoj suplementaciji

Tabela 2: Određen i deklarisan sadržaj kofeina i taurina u analiziranim energetskim pićima

Naziv uzorka	Sadržaj kofeina (mg/l)			Sadržaj taurina (mg/l)		
	određen	deklarisan	odstupanje* (%)	određen	deklarisan	odstupanje* (%)
Booster®	295,0±8,8	320	-7,8	3926,1±127,9	4000	-1,9
Sinalco energy®	226,0±8,8	250	-9,6	3226,5±126,6	4000	-19,3
Burn®	297,2±8,8	320	-7,1	3543,1±126,1	4000	-11,4
Excess®	149,7±9,4	250	-40,1	282,7±12,93	4000	-92,9
Guarana®	247,8±8,7	320	-22,6	3016,3±127,8	4000	-24,6
Guarana mojito®	250,4±8,7	250	0	3352,2±126,3	4000	-16,2
Ultra Orange®	301,6±8,8	320	-5,8	3933,9±126,4	4000	-1,7
Ultra Original®	299,9±8,9	320	-6,3	3160,9±126,9	4000	-21,0
Red Bull®	319,2±8,9	320	0	3978,1±127,7	4000	-0,6
Doctor Night®	155,6±9,3	250	-37,8	306,9±12,74	4000	-92,3

*razlika određenog sadržaja u odnosu na deklarisan

koristi kao ergogeno sredstvo [22]. Taurin je takođe često prisutan u dodacima ishrani, posebno onim namenjenim sportistima. U ovom radu analizirano je ukupno 13 proizvoda, od kojih je 7 sadržalo kofein (pored drugih sastojaka), a 6 proizvoda je sadržalo taurin (takođe uz druge aktivne sastojke). Nijedan proizvod nije sadržao istovremeno i kofein i taurin.

Deklarisan sadržaj kofeina u suplementima kretao se u širokom rasponu vrednosti od 50 do 200 mg u jednoj dozi. Analiza je utvrdila da se stvarni sadržaj kofeina kretao od 45,5 mg do 200 mg. Na osnovu rezultata je utvrđeno da je u većini ispitivanih proizvoda u kojima je bilo deklarirano prisutvo kofeina postojala razlika stvarnog i deklarisanog sadržaja. Kod samo jednog proizvoda utvrđen je niži sadržaj kofeina, dok je kod 3 proizvoda deklarirani sadržaj kofeina bio prekoračen za 9-38%. Deklarirani sadržaj taurina u suplementima je uglavnom bio 1000 mg/dnevna doza, u dva proizvoda namenjena sportistima količina nije bila označena, a u jednom proizvodu količina taurina iznosila je svega 6,7 mg/dozi. Analizom sadržaja taurina u suplementima uočena su značajna odstupanja u nekoliko proizvoda i to snižene količine za 36 i 41%. U proizvodima u kojima količina taurina nije bila deklarirana pronađene su i najveće količine ovog sastojka od preko 2 g i preko 7 g u jednoj dozi. Radi se o suplementima namenjenim sportistima, koji predstavljaju mešavine sa zaštićenim sastavom komponenata. To su obično proteinske mešavine, koje se preporučuju za povećanje mišićne mase i izdržljivosti. Količina fiziološki aktivnih komponenata, među kojima je i taurin, ne deklariraju se pojedinačno. To može predstavljati problem za sportiste i druge konzumente, jer bez tačnih podataka o sadržaju dijetetskih proizvoda, ne može se uspešno i bezbedno sprovesti kontinuirana suplementacija i poboljšanje fizičkih performansi [23].

Nijedan zakonik akt Republike Srbije ne definiše kolika su dozvoljena odstupanja sadržaja sastojaka hrane u odnosu na deklarirane vrednosti, ali postoji zahtev za odstupanje sadržaja aktivnih supstanci u

lekovima od $\pm 5\%$ [24]. S obzirom da se u slučaju kofeina i taurina radi o aktivnim supstancama sa fiziološkim efektima, od kojih se kofein koristi i kao sastojak nekih lekova, ovaj zahtev bi mogli primeniti i na analizirane uzorke. U tom slučaju od 10 analiziranih energetskih napitaka samo bi jedan zadovoljio taj kriterijum, kao i 2 od 13 analiziranih suplemenata. Niži sadržaj kofeina u energetskim napicima i napicima tipa kole našli su i Papanov i sar, a Haller i sar. sličnu situaciju su uočili kod suplemenata koji su sadržali kofein [25,26].

U Tabeli 4 prikazan je potencijalni dnevni unos kofeina i taurina koji bi se mogao ostvariti konzumacijom analiziranih energetskih pića i suplemenata, a koji je izračunat na osnovu preporuke proizvođača o maksimalnom dnevnom unosu a koja je navedena na deklaracijama proizvoda. Utvrđeni unos kofeina iz energetskih napitaka kreće se u rasponu 113 - 295 mg, a iz suplemenata 59-400 mg. Za taurin dnevni unos iz energetskih napitaka je procenjen na 0,28-3,9 g, a iz suplemenata u veoma širokom rasponu od 12 mg do 7,8 g. Unos kofeina i taurina je u proseku niži iz energetskih napitaka u odnosu na suplemente.

Kada se maksimalne procenjene vrednosti za unos kofeina iz analiziranih energetskih napitaka i suplemenata uporede sa vrednostima koje EFSA smatra bezbednim vidi se da pojedinačni unosi iz energetskih napitaka, kao i iz suplemenata ne prelaze te granice. Međutim, kofein se može u toku dana uneti iz velikog broja izvora, od kojih neki predstavljaju uobičajene namirnice, a prisutan je i u brojnim lekovima koji se izdaju bez recepta Stoga brojke do kojih smo došli u ovom radu predstavljaju upozorenje za korisnike, kako energetskih napitaka, tako i suplemenata sa kofeinom. Posebno je rizična istovremena konzumacija energetskih pića sa alkoholom. Relativno često konzumiranje energetskih pića sa alkoholom može imati posledice po zdravlje. Ciljna grupa ovakvih "koktela" su mladi ljudi, stariji od 18 godina, ali i adolescenti. Smrtni slučajevi usled konzumiranja ovih koktela zabeleženi su gotovo u svim zemljama. Štetni efekti ove kombinacije

Tabela 3: Određen i deklarisan sadržaj kofeina i taurina u suplementima

Naziv uzorka	Sadržaj kofeina (mg/doza)			Naziv uzorka	Sadržaj taurina (mg/doza)		
	određen	deklarisan	odstupanje* (%)		određen	deklarisan	odstupanje* (%)
Guarana®, kapsule	167,8 $\pm$ 4,54	132	+27,1	KyaniSunrise®	1102 $\pm$ 37,9	1000	+10,3
Grenade Thermo Detonator®, kapsule	155,6 $\pm$ 4,45	112,5	+38,3	SuperCharge Xtreme®, prah	588 $\pm$ 42,6	1000	-41,2
Medgum® energy, žvake	45,5 $\pm$ 5,11	50	-8,9	SuperPump MAX®, prah	7850 $\pm$ 250	Nije deklarisan	—
MegaFit formula®, kapsule	54,4 $\pm$ 4,97	50	+8,8	Orthomol®Diabet, kapsule	4,3 $\pm$ 0,28	6,67	-36,1
Assault®, prah	201,7 $\pm$ 4,49	Nije deklarisan	—	Assault®, prah	2346 $\pm$ 122	Nije deklarisan	—
Thermoxxtreme HCultra®, kapsule	233,4 $\pm$ 19,67	Nije deklarisan	—	Taurine®, kapsule	971 $\pm$ 27,7	1000	-2,8
Caffeine®, kapsule	199,45 $\pm$ 4,90	200	0				

*razlika određenog sadržaja u odnosu na deklarisan

su posledica suprotnog delovanja alkohola i kofeina [27, 28]; naime, kofein iz energetskih pića deluje stimulativno, alkohol deluje depresivno na centralni nervni sistem. Stimulišući efekat kofeina prikriva depresivni efekat alkohola, pa osoba koja kombinuje ova dva pića ne može proceniti koliko je alkohola popila, te nastavlja sa konzumiranjem alkohola preko granice tolerancije.

Razmatranje konzumiranja kofeina i taurina, ponovo su inicirale neke članice EFSA, koje su izrazile zabrinutost zbog velike potrošnje energetskih pića posebno kod adolescenata (osoba starosti od 10 do 18 godina). EFSA je 2013. godine objavila novi Izveštaj o potrošnji energetskih napitaka kod određenih grupa potrošača [28]. Rezultati ispitivanja koji su predstavljeni u Izveštaju su prilično zabrinjavajući, s obzirom na to da su deca i adolescenti, kojima se ne preporučuje konzumiranje energetskih pića, ubedljivo najčešći potrošači.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata određivanja sadržaja kofeina, izvodi se zaključak da je neophodno vršiti kontrolu sadržaja kofeina u dijetetskim suplementima, ali i uvesti strožu zakonsku regulativu za obeležavanje dijetetskih proizvoda. Deklarisanje sadržaja svih sastojaka u dijetetskom proizvodu, uključujući i kofein i taurin, mora biti zakonski regulisano, bez obzira da li se radi o sintetičkom kofeinu, kofeinu iz biljnog materijala ili kofeinu u „zaštićenoj mešavini“ sa drugim fiziološki aktivnim supstancama. Praktično, to znači da treba obratiti posebnu pažnju na dijetetske suplemenate koji sadrže ekstrakt biljke ili biljni preparat, sa kofeinom kao aktivnim principom. Na njihovim deklaracijama se uglavnom deklariše sadržaj samog ekstrakta, ali ne i sadržaj kofeina, te konzumenti ostaju uskraćeni za informacije o količinama kofeina koju unose. Posebno kod mladih osoba konzumiranje energetskih napitaka uz mogućnost korišćenja suplemenata, može predstavljati rizik od prekoračivanja bezbedne količine ova dva fiziološki aktivna sastojka.

Tabela 4: Procenjen maksimalni dnevni unos kofeina i taurina iz energetskih pića i suplemenata*

Uzorak	Dnevni unos kofeina (mg)	Dnevni unos taurina (mg)
Booster®	295,5	3926
Sinalco energy®	113,0	1613
Burn®	148,6	1771
Excess®	149,7	282,7
Guarana®, piće	123,9	1508
Guarana mojito®	125,2	1676
Ultra Orange®	150,8	1967
Ultra Original®	149,2	1580
Red Bull®	159,6	1989
Doctor Night®	159,6	306,9
Guarana®, kapsule	336	-
Grenade Thermo Detonator®, kapsule	467	-
Med gum® energy, žvake	91	-
Mega Fit formula®, kapsule	54,5	-
Assault®, prah	202	-
Thermoxxtreme HC ultra®, kapsule	467	-
Caffeine®, kapsule	399,8	-
Kyani Sunrise®, tečni ekstrakt	-	1102
Super Charge Xtreme®, prah	-	1176
Super Pump MAX®, prah	-	7850
Orthomol® Diabet, kapsule	-	12,9
Assault®, prah	-	2346
Taurine®, kapsule	-	2914

*vrednosti su izračunate iz analiziranih vrednosti na osnovu preporuka proizvođača pića i suplemenata o maksimalnom načinu konzumiranja

BIBLIOGRAFIJA

1. Kovačević N. Osnovi farmakognozijske. Beograd: Farmaceutski fakultet; 2002.
2. Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cell Mol Life Sci* 2007; 61(7-8): 857-72.
3. Iancu I, Olmer A, Strous RD. Caffeinism: History, clinical features, diagnosis, and treatment. In: Smith BD, Gupta U, Gupta BS, eds. Caffeine and activation theory: effects on health and behavior. CRC Press 2007: 331-44.
4. Baselt R. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. Seal Beach, CA: Biomedical Publications, 9th edition 2011; 236-9.
5. Alstott RL, Miller AJ, Forney RB. Report of a human fatality due to caffeine. *Journal of Forensic Science* 1973; 18 (35)
6. Peters JM. Factors Affecting Caffeine Toxicity: A Review of the Literature. *The Journal of Clinical Pharmacology* 1967; 7(7):131-141.
7. Kerrigan S, Lindsey T. Fatal caffeine overdose: two case reports. *Forensic Sci Int* 2005; 153(1):67-69.
8. Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M. Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants* 2003; 20(1): 1-20
9. Meltzer HM, Fotland TO, Alexander J, Elind E, Hallstrom H, Lam H R, Liukkonen K-H, Petersen M A, Solbergdottir E J. Risk assessment of caffeine among children and adolescents in the Nordic countries. *TemaNord* 2008: 551. Copenhagen: Nordic Council of Ministers, Copenhagen
10. EFSA Scientific opinion on the safety of caffeine. *EFSA J* 2015; 13(5): 4102-4222
11. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima osvežavajućih bezalkoholnih pića. Službeni list SCG, br 18/2006.
12. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda. Službeni glasnik RS, br.45/2010.
13. Bouckenooghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr* 2006; 9(6):728-33.
14. Brosnan J, Brosnan M. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J Nutr* 2006; 136 (Supl. 6): 1636S-40S.
15. Pop-Busui R, Sullivan KA, Van Huyse C i sar. Depletion of taurine in experimental diabetic neuropathy: implications for nerve metabolic, vascular and functional deficits. *Exp Neurol* 2001; 168(2): 259-72.
16. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. The use of taurine and D-glucurono-γ-lactone as constituents of the so-called "energy" drinks. *The EFSA Journal* 2009; 935: 1-31.
17. Priyadarsini B et al. Taurine, a key amino-acid in the drug discovery. *Asian Journal of Biomedical & Pharmaceutical Sciences* 2012, 2(12): 21-7.
18. Effects of taurine on advanced glycosylation end products and expression of TGF-β in renal cortex, TsingHua, 2005.
19. Poole FC. The essence of Chromatography. Amsterdam: Elsevier; 2003.
20. Lindroth P, Mopper K. High performance chromatographic determination of subpicomole of amino acids by precolumn fluorescence derivatisation with o-phthaldialdehyde. *Analytical chemistry* 1979; 51(11):1667-74.
21. SRS ISO 8466-1:1994. Kvalitet vode - Kalibracija i ocenjivanje analitičkih metoda i ispitivanje karakteristika izvođenja metode - Deo 1: Statističko ocenjivanje linearne kalibracione funkcije.
22. Perilović T, Ilić B, Živkov S. Poremećaj srčanog ritma nakon konzumiranja energetskog napitka Guarane. *ABC* 2006; 6(1): 36-39.
23. Đorđević B, Stojanović B, Baralić I. Sportska ishrana. Farmaceutski fakultet, Beograd, 2016.
24. Pravilnik o načinu kontrole kvaliteta lekova i medicinskih sredstava. "Službeni glasnik RS", br. 64/2011 i 63/2013.
25. Papanov S, Pankova S, Ivanov K, Ivanova S, Doncheva D, Pencheva I. Analytical methods for quantity control of food supplements containing caffeine. *Int J Nutr Food Sci* 2015; 4: 14-17
26. Haller CA, Duan M, Benowitz NL, Jacob P. Concentrations of ephedra alkaloids and caffeine in commercial dietary supplements. *J Anal Tox* 2004; 28: 145-152
27. Adžić D. Energetska pića i njihove aktivne komponente. *Hemijski pregled* 2011; 52(6): 152-156.
28. External scientific report: Gathering consumption data on specific consumer groups of energy drinks. EFSA Supporting Publications 2013: EN-394.

Determination of the content of caffeine and taurine in energy drinks and dietetic products by hplc method

Tatjana Nedeljković¹,
Zoran Pavlović²,
Sanda Dilber³,
Slađana Šobajić⁴,
Danica Michaličkova⁵,
Brižita Đorđević⁴

¹Institute of Public Health of Serbia -
"Dr Milan Jovanović Batut", Milana Subotića 3,
11 000 Beograd

²Institute of Public Health of Požarevac,
Jovana Šerbanovića 14, 12 000 Požarevac

³Department of Organic Chemistry, Faculty of
Pharmacy, University of Belgrade,
Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd

⁴Department of Bromatology,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade,
Vojvode Stepe 450, 11 221 Beograd

⁵Institut za farmakologiju,
Prvi medicinski fakultet, Karlov univerzitet,
Albertov 4, Prag, Republika Češka

Summary: Background Caffeine and taurine are widely used as ergogenic aids in the population of professional athletes. However, in recent years their use in the general population is becoming popular. There is increased number of energy drinks and dietary products on the market which contain these substances.

The aim Declared caffeine and taurine content often do not coincide with the actual amounts that are found in the products. Therefore, it is necessary to determine the actual content of the consumed products, as well to evaluate the intake of these physiologically active substances.

Methodes This paper presents the results of analyzed content of caffeine and taurine in selected products from the market. HPLC-DAD was used for evaluation of the content of taurine and caffeine in energy drinks and dietetic products.

Results and discussion The content of caffeine and taurine in all tested energy drinks did not exceed the declared content. In 57% of the tested dietary supplements obtained amount of caffeine significantly exceeded the declared daily dose, and 28% of all samples did not have declared caffeine content. In 50% of dietary supplements that contained taurine label did not contain information on its amount.

Conclusion It is necessary to take more rigorous control and firmer legislation into the system of dietary products which contain caffeine and taurine.

Key words: caffeine, taurine, HPLC, energy drinks, dietetic products