

EWA MAJEWSKA

ILOŚCIOWE OZNACZANIE ASPARTAMU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH METODĄ MIARECZKOWĄ

Streszczenie

Celem pracy było sprawdzenie możliwości zastosowania metody miareczkowej z kwasem nadchlorowym do ilościowego oznaczania aspartamu w produktach typu „light”. Ponadto podjęto próbę walidacji tej metody. W celu oceny metody i określenia jej przydatności sprawdzano liniowość, selektywność, dokładność i powtarzalność oznaczeń aspartamu w badanych próbkach. Wartość średniego odzysku środka słodzącego, w zależności od wzmocnienia i rodzaju próbki, kształtowała się w granicach od 80 do 119%, a współczynnik zmienności charakteryzujący rozrzut wyników w tej metodzie nie przekraczał 5%.

Słowa kluczowe: aspartam, ilościowe oznaczanie, metoda miareczkowa

Wstęp

Alarmujący wzrost zachorowań na tle wadliwego odżywiania spowodował szerokie propagowanie zasad właściwego modelu żywienia. Jednym z aktualnych trendów w produkcji środków spożywczych jest modyfikacja składu recepturowego, prowadząca do otrzymania m.in. żywności niskoenergetycznej (w tym niskocukrowej, bezcukrowej, niskotłuszczowej), niskocholesterolowej i probiotycznej. Otrzymywanie produktów nisko i bezcukrowych możliwe jest przez zastosowanie tzw. zamienników cukru, takich jak aspartam. Syntetyczne środki słodzące nie są metabolizowane w jamie ustnej do kwasów przez bakterie gromadzone na płycie nazębnej. Dzięki temu jej pH utrzymuje się na stałym poziomie i szkliwo nie jest narażone na próchnicę [3].

Jednocześnie należy nadmienić, że według niektórych autorów [2] zarówno cukier, jak i słodziki, nie spełniają w organizmie człowieka istotnej roli, poza zaspokojeniem organicznej potrzeby słodkiego smaku.

Stosowanie sztucznych środków słodzących okazało się niezwykle efektywne przy produkcji żywności o zredukowanej wartości energetycznej. Substancje te zaliczane są do dodatków do żywności, co pociąga za sobą konieczność wszechstronnego przetestowania ich przed wprowadzeniem do obrotu, szczególnie pod względem toksykologicznym. Ponadto niezbędne jest opracowanie metod analitycznych pozwalających na szybką i precyzyjną identyfikację syntetycznych środków słodzących oraz określenie ich zawartości w produkcie. Jest to ważne z punktu widzenia kontroli jakości żywności, polegającej na sprawdzaniu zgodności z normą czy recepturą, jak również dla technologa projektującego proces produkcyjny, przy określaniu parametrów obróbki, które nie spowodują szkodliwego zwykle rozkładu substancji dodatkowej.

Celem pracy było sprawdzenie możliwości zastosowania metody miareczkowej z kwasem nadchlorowym do ilościowego oznaczania aspartamu w różnych produktach spożywczych o obniżonej kaloryczności. Ponadto podjęto próbę walidacji tej metody, czyli potwierdzenia jej zrozumiałości i poprawności naukowej w stosowanych warunkach.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły wybrane produkty spożywcze, w których jako zamiennik cukru zastosowano aspartam. Badaniom poddano: słodziki w tabletkach, zaprawę do przyrządzania napojów oraz koncentraty spożywcze – budyń o smaku śmietankowym i kisiel o smaku wiśniowym.

Zawartość aspartamu w badanych produktach oznaczano metodą miareczkową z wykorzystaniem kwasu nadchlorowego [5].

Przygotowanie próbek do oznaczania aspartamu

Słodziki w tabletkach – odpowiednią naważkę (0,7–1,4 g) preparatów słodzących rozpuszczano w kwasie octowym lodowatym i uzupełniano do 10 ml.

Produkty płynne – odpowiednią ilość płynów (100 ml) odparowywano na wrzącej łąźni wodnej, a pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w kwasie octowym lodowatym i uzupełniano do 100 ml.

Koncentraty spożywcze w proszku – w celu ekstrakcji aspartamu naważki produktów (25–70 g) traktowano 20 ml alkoholu metylowego i wytrząsano przez 15 minut w temperaturze pokojowej. Alkohol metylowy odparowywano w wyparce próżniowej, a pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w kwasie octowym lodowatym i uzupełniano do 100 ml.

Oznaczanie aspartamu metodą miareczkową

Odczynniki

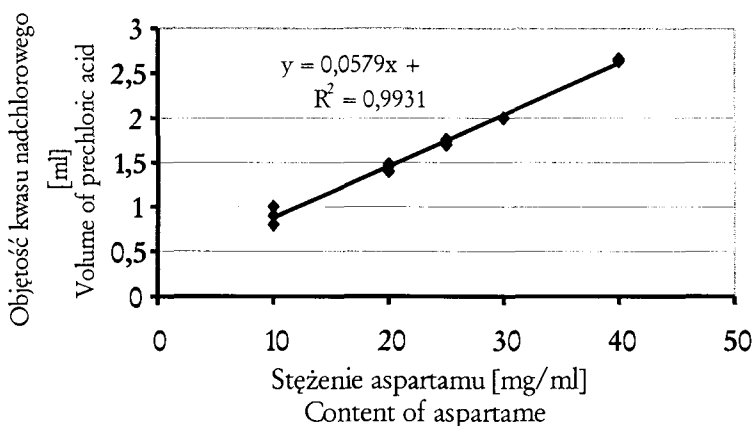
- 1) resazuryna firmy SIGMA (nr kat. R-2127) – 0,1% (m/v); 100 mg resazuryny rozpuszczano w 100 ml kwasu octowego lodowatego,
- 2) kwas nadchlorowy – 0,05 M; 4,25 ml 70–72% kwasu nadchlorowego firmy MERCK (nr kat. 100519) mieszano z 12,5 ml bezwodnika octowego firmy PPH „POCH” S.A. (nr kat. 693870115) i uzupełniano kwasem octowym lodowatym do objętości 1 l.

Wykonanie oznaczenia

Do kolb stożkowych przenoszono po 5 ml roztworów badanych produktów, następnie pipetą automatyczną dodawano po 15 ml lodowatego kwasu octowego i 0,2 ml roztworu resazuryny. Tak przygotowaną mieszaninę miareczkowano kwasem nadchlorowym do momentu zmiany barwy z różowej na pomarańczowoczerwoną.

Obliczanie wyników

Zawartość aspartamu w badanych produktach obliczano na podstawie równania krzywej wzorcowej (rys. 1), sporządzonej jako zależność objętości kwasu nadchlorowego zużytego na zmiareczkowanie od stężenia aspartamu. Wyniki wyrażano w mg/100 mg, mg/100 ml lub w mg/100 g badanego produktu.



Rys. 1. Krzywa wzorcowa do oznaczania aspartamu.

Fig. 1. Calibration curve for determination of aspartame.

W celu oceny metody i określenia jej przydatności przeprowadzono jej walidację. Sprawdzano takie parametry jak: liniowość, selektywność, dokładność i powtarzalność oznaczeń aspartamu w badanych próbach.

Liniowość metody sprawdzano poprzez analizę zależności objętości kwasu nadchlorowego zużytego na zmiareczkowanie prób od stężenia aspartamu (10–40 mg/ml). Natomiast selektywność wykorzystywanej w pracy metody sprawdzano oznaczając zawartość aspartamu w roztworach modelowych, sporządzonych przez dodanie do standardowego roztworu aspartamu (200 mg/50 ml) takich ilości różnych substancji, aby ich stężenie było zbliżone do przeciętnej zawartości w badanych produktach.

Oceny dokładności, tzn. zgodności średniej wartości stężenia danego składnika z wartością należną, dokonywano na podstawie pomiaru badanego produktu z domieszką wzorca i określenia odzysku. Badania prowadzono stosując dwa poziomy fortyfikacji. Dodawano taką ilość aspartamu, aby uzyskać wzbogacenie o 50 i 100% ilości aspartamu oznaczonego wcześniej w produktach. Odzysk metody określano w stosunku do teoretycznie obliczonej zawartości środka słodzącego, stanowiącej sumę oznaczonego stężenia i poziomu wzbogacenia, przyjmując tę wartość za 100%.

Omówienie wyników

Podstawowym celem chemii analitycznej jest dostarczenie informacji o ilości określonego składnika obecnego w badanym materiale. Proces walidacji metody kładzie ogromny nacisk na jakość uzyskiwanych wyników. Najważniejszymi kryteriami każdego wyniku analitycznego są dokładność i precyzja. Do podstawowych parametrów walidacji należą również: selektywność, liniowość i niepewność wyników.

Otrzymana w badaniach wstępnych krzywa wzorcowa miała przebieg prostoliniowy (rys. 1).

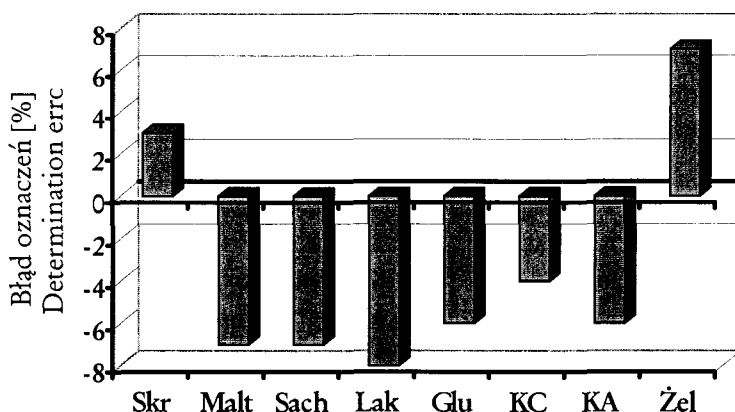
Wynik oznaczenia analitycznego ma sens wówczas, gdy sygnał analityczny pochodzący od oznaczanej substancji nie jest zakłócony przez inne składniki próbki. Analizowano roztwory z dodatkiem następujących substancji: glukoza, laktoza, sacharoza, maltodekstryna, skrobia, kwas askorbinowy, kwas cytrynowy i żelatyna. Otrzymane wartości aspartamu porównano z rzeczywistą jego zawartością, równą 200 mg (przyjętą jako 100%). Na rys. 2. przedstawiono wielkość zaobserwowanego błędu obliczonego z równania:

$$\text{Błąd oznaczenia} = - [(M_{\text{asp}} - M_{\text{ozn}}) \cdot (M_{\text{asp}})^{-1}] \cdot 100 [\%]$$

gdzie: M_{asp} – zawartość aspartamu w roztworze standardowym,

M_{ozn} – ilość oznaczonego aspartamu w badanym roztworze modelowym.

Z badanych substancji jedynie skrobia i żelatyna wpływały zawyżająco na uzyskiwane wyniki, natomiast pozostałe składniki zaniżały otrzymany zawartości aspartamu. Błąd oznaczeń nie przekraczał w żadnym przypadku 10%.



Rys. 2. Wpływ różnych dodatków na selektywność metody oznaczania aspartamu. Objasnienia: Skr – skrobia, Malt – maltodekstryna, Sach – sacharoza, Lak – laktoza, Glu – glukoza, KC – kwas cytrynowy, KA – kwas askorbinowy, Żel – żelatyna.

Fig. 2. The influence of different additives' presence on the selectivity of the method. Explanation: Skr – starch, Malt – maltodextrin, Sach – saccharose, Lak – lactose, Glu – glucose, KC – citric acid, KA – ascorbic acid, Żel – gelatin.

Powtarzalność oznaczeń aspartamu w badanych próbkach przedstawiono w tab. 1. Zawartość aspartamu w badanych słodzikach w tabletkach wynosiła: w słodziku Sweetex 45,8 mg/100 mg, w słodziku Sweet Top 22,7 mg/100 mg. Według danych producenta aspartamu [4] zawartość środka słodzącego w jednej tabletkce, ważącej 60–90 mg, wynosił około 18–20 mg, czyli 20–34 mg/100 mg produktu. Askar i Saddik [1] podają zawartość aspartamu na poziomie 20–25 mg w tabletkce, jako odpowiadającą słodzącą sacharozie, co w przeliczeniu na 100 mg preparatu słodzącego daje 33–42 mg środka słodzącego. Uzyskane w pracy wartości są zgodne z danymi literaturowymi. Wartość średniego odzysku w badanych słodzikach wahała się od 78 do 90%. W zaprawie pomarańczowej zawartość środka słodzącego kształtowała się na poziomie 223,5 mg/100 ml. Odzysk uzyskany podczas analizy tego produktu mieścił się w zakresie od 80 do 94%. W koncentraty deserów w proszku uzyskano zawartość aspartamu: w budyniu o smaku śmietankowym – 292,6 mg/100 g, natomiast w kisielu o smaku wiśniowym – 493,2 mg/100 g. Otrzymana wartość w budyniu o smaku śmietankowym jest niższa od zawartości aspartamu jaki podały Skrzypek i Okolska [6, 7] – 345,4 mg/100 g produktu. Średni odzysk w badanych koncentraty deserów w proszku wynosił odpowiednio: w budyniu 94–116%, a w kisielu 101–119%. Odchylenia standardowe, świadczące o precyzji metody, kształtowały się na poziomie: w słodzikach – odpowiednio 0,42 i 0,50 mg/100 mg, w produktach płynnych – odpowiednio 4,36 i 1,78 mg/100 ml, natomiast w koncentraty deserów w proszku – odpowiednio

5,08 i 6,10 mg/100 g. Rozrzut wyników wahał się w granicach od 0,4% (w przypadku kisielu wiśniowego wzbogaconego 100% dodatkiem aspartamu) do 5,20% (w przypadku słodzika Sweet Top wzbogaconego 50% dodatkiem aspartamu).

Tabela 1

Odzysk i precyzja metody miareczkowej (n = 20).

Average recovery and accuracy of the titrimetric method (n = 20).

Charakterystyka badanych produktów Characteristic of investigated foodstuffs	Dodatek aspartamu [%] Aspartame addition [%]		
	0	50	100
Słodziak Sweetex / Sweetener Sweetex Zawartość aspartamu oznaczona / obliczona, [mg/100mg] Aspartame content determined / counted Średni odzysk / recovery [%] SD RSD, [%]	45,9/- - 0,42 0,9	49,3/54,6 90 0,26 0,5	51,5/62,6 82 0,42 0,8
Słodziak Sweet Top / Sweetener Sweet Top Zawartość aspartamu oznaczona / obliczona, [mg/100mg] Aspartame content determined / counted Średni odzysk / recovery [%] SD RSD, [%]	22,7/- - 0,50 2,2	34,9/41,0 85 1,82 5,2	42,4/54,4 78 0,78 1,8
Zaprawa pomarańczowa / Orange drink concentrate Zawartość aspartamu oznaczona / obliczona, [mg/100ml] Aspartame content determined / counted Średni odzysk / recovery [%] SD RSD, [%]	223,5/- - 1,78 0,8	300,9/320,0 94 2,82 0,9	336,2/419,6 80 3,30 1,0
Budyń śmietankowy / Custard Zawartość aspartamu oznaczona / obliczona, [mg/100g] Aspartame content determined/counted Średni odzysk / recovery [%] SD RSD, [%]	292,6/- - 5,08 1,7	645,6/684,4 94 5,68 0,9	119,4/1028,4 116 8,03 0,7
Kisiel wiśniowy / Starch gelly Zawartość aspartamu oznaczona / obliczona, [mg/100g] Aspartame content determined / counted Średni odzysk / recovery [%] SD RSD, [%]	493,2/- - 6,10 1,2	1209,8/1015,0 119 20,18 1,7	1522,9/1511,8 101 5,91 0,4

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

RSD – względne odchylenie standardowe (współczynnik zmienności) / relative standard deviation

Mając na uwadze te wielkości, jak również podstawową charakterystykę statystyczną (tab. 2), można stwierdzić, że metoda miareczkowa z wykorzystaniem kwasu nadchlorowego charakteryzuje się dobrą precyzją.

Tabela 2

Parametry statystyczne dotyczące metody miareczkowej.
Statistical parameters of the titrimetric method.

Parametry statystyczne Statistical parameters	Produkty / Products				
	Słodzik Sweetex Sweetener Sweetex	Słodzik Sweet Top Sweetener Sweet Top	Zaprawa Drink concentrate	Budyń Custard	Kisiel Starch gelly
Liczba powtórzeń Number of repetitions	20	20	20	20	20
Średnia arytmetyczna Mean value	45,8	22,7	223,5	292,6	493,2
Wariancja Variance	0,2	0,2	3,2	25,8	37,2
Odchylenie standardowe Standard deviation	0,42	0,50	1,78	5,08	9,10
Mediana Median	45,8	22,2	224,9	296,5	498,0
Wartość minimalna Minimum	45,3	22,2	221,5	286,7	486,2
Wartość maksymalna Maximum	46,3	23,2	224,9	296,5	498,0
Rozrzut wyników Dispersion of results	1,0	1,0	3,4	9,8	11,8
Błąd standardowy Standard error	0,1	0,2	0,6	1,6	1,9
Przedział ufności średniej Confidence interval for mean	± 0,30	± 0,34	± 1,3	± 3,63	± 4,36

Według Przewodnika Eurachem niepewność pomiaru jest pojedynczym parametrem (zazwyczaj jest to odchylenie standardowe średniej próbki, czyli błąd standardowy lub przedział ufności), który na podstawie wyniku pomiaru określa zakres możliwych wartości. W badanych produktach spożywczych wartości błędu statystycznego kształtowały się na poziomie od 0,1 (w przypadku słodzika Sweetex) do 1,9 (w przypadku kisielu wiśniowego), natomiast przedziały ufności ($\alpha = 0,05$) w tych wyrobach wahały się w granicach od $\pm 0,30$ do $\pm 4,36$ odpowiednio w tych samych produktach. Wartości te wykazały, że wykorzystywana w pracy metoda charakteryzuje się dobrą precyzją.

Wnioski

1. Precyzja metody, szacowana na podstawie powtarzalności wyników, była wysoka. W badanych produktach uzyskano wartości współczynnika zmienności niższe od 5%.
2. Metoda charakteryzowała się dużą selektywnością, a jej dokładność, wyrażona odzyskiem aspartamu, wahała się w granicach od 80 do 119%.
3. Proponowana metoda jest szybka i prosta w wykonaniu oraz nie wymaga użycia kosztownego sprzętu. W związku z tym może być zastosowana w rutynowej kontroli jakości.
4. Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość zastosowania metody miareczkowej z kwasem nadchlorowym do ilościowego oznaczania aspartamu w różnych produktach spożywczych.

Literatura

- [1] Askar A., Saddik F.: Application with Sweeteners. *Fruit Processing*, 1996, **10**, 394-398.
- [2] Binder F., Wahler J.: Cukier, nie dziękuję. SPAR, Warszawa 1994.
- [3] Krutošikowa A., Uher M.: Naturalne i syntetyczne substancje o słodkim smaku. PWN, Warszawa 1990.
- [4] Nutra Sweet: Informacje techniczne. Materiały firmy NutraSweet AG., Warszawa 1999.
- [5] Prasad U.V., Divakar T.E., Sastry S.P., Rao V.M., Kapur O.p.: New methods for the determination of aspartame. *Food Chem.*, 1988, **28**, 269-278.
- [6] Skrzypek B., Okolska G.: Oznaczanie aspartamu, acesulfamu K, sacharyny w wybranych produktach spożywczych za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997, **24** (1), 45-62.
- [7] Skrzypek B., Okolska G.: Oznaczanie zawartości aspartamu, acesulfamu K, sacharyny. W: Wybrane metody analitycznej oceny wartości odżywczej żywności, pod red. Kunachowicz H., *Prace IŻŻ*, 1997, **83**, 63-73.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ASPARTAME IN FOOD PRODUCTS USING TITRIMETRIC METHOD

S u m m a r y

The aim of this work was the verification of the possibility of a titration method with perchloric acid usage for the quantitative determination of aspartame in “light” products. However, a trial of validation of this method was undertaken. To assess the method and to determine its suitability, the linearity, the selectivity, the accuracy and the repeatability of aspartame content determination in samples investigated were specified. The sweetener average recovery value, depending upon level of fortification and kind of sample, ranged from 80 to 119% and relative standard deviation value characterizing the range of results did not exceed 5%.

Key words: aspartame, quantitative determination, titrimetric method 