

Stanovenie acesulfamu K metódou kapilárnej izotachoforézy

ELENA BUBELÍNIOVÁ – MILAN SUHAJ – MILAN KOVÁČ

Súhrn. Cieľom tejto práce bolo vypracovať analytickú metódu na stanovenie acesulfamu K použitím kapilárnej izotachoforézy, overiť ju na praktických vzorkách nealkoholických nápojov a pri štúdiu hydrotermickej stability acesulfamu K a sledovaní jeho degradácie v ekvimolárnych zmesiach s vybranými organickými kyselinami. Acesulfam K stanovený izotachoforézou sa porovnával UV spektrofotometriou. Metóda kapilárnej izotachoforézy poskytuje rýchle výsledky a je vhodná na sériovú analýzu i na kontrolu analytickej čistoty tohto sladidla.

V súčasnosti je aktuálnym problémom racionálnej výživy rozšírenie sortimentu potravín so zníženou energetickou hodnotou. Sacharóza je jedným z najväčších donorov energie a okrem toho prispieva ku kariogenéze, nadváhe a participuje pri niektorých poruchách metabolizmu (diabetes melitus). Z tohto hľadiska je fyziológia výživy dostatočným popudom k tomu, aby sa sacharóza odstránila z potravín čiastočne alebo úplne, resp. nahradila nízkoenergetickým syntetickým sladidlom.

Poznáme viaceré látky so sladivým účinkom, ale počet prakticky použiteľných syntetických sladidiel je veľmi malý, pretože majú buď malú sladivosť, buď iné technologické nevýhody. V ostatných rokoch sa objavili nové druhy sladidiel, z ktorých dosť perspektívne sú aj oxatiazínondioxidy, najmä draselná soľ 6-metyl-1, 2, 3-oxatiazín-4-on-2, 2-dioxidu, ktorá sa nazýva acesulfam K.

V súvislosti s aplikáciou nových syntetických sladidiel v potravinách sa hľadali rýchle a spoľahlivé metódy na ich kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu a kontrolu ich čistoty. Väčšina metód sa zaoberala stanovením sacharínu, neskôr analýzou sacharínu za prítomnosti cyklamátu [1]. V poslednom čase sa na analýzu syntetických sladidiel najčastejšie používa metóda kvapalinovej chromatografie a pre niektoré typy sladidiel aj metódy kapilárnej izotachoforézy. Obidve uvedené metódy sú veľmi výhodné pre nenáročnú úpravu vzorky, rýchlu analýzu, dostatočnú presnosť a dobrú reprodukovateľnosť.

Prom. farm. Elena Bubelíniová, Ing. Milan Suhaj, Ing. Milan Kováč, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

V súvislosti so zavedením ďalších sladidiel aspartamu a acesulfamu K sa vypracovala analytická metóda na ich stanovenie za prítomnosti sacharínu a cyklamátu [2]. Zache a Grundig analyzovali uvedené 4 syntetické sladidlá metódou kvapalinovej chromatografie a kapilárnej izotachoforézy. Obidve metódy sú vhodné na stanovenie sladidiel, pričom autori považujú použitie HPLC za menej problematické.

V čase riešenia tejto problematiky sme mali poznatky iba o všeobecných a toxikologických vlastnostiach uvedeného sladidla [3], o výsledkoch štúdia jeho hydrotermickej stability, ako aj prehľad o jeho spektrálnych vlastnostiach [4–6]. Okrem stanovenia acesulfamu K pomocou UV spektrofotometrie nebola známa nijaká iná metóda, čo bolo podnetom pre skúmanie možnosti aplikácie kapilárnej izotachoforézy v danej oblasti.

Cieľom tejto práce bolo vypracovať vhodnú analytickú metódu na stanovenie acesulfamu K pomocou kapilárnej izotachoforézy, jej overenie na praktických vzorkách nealkoholických nápojov a pri štúdiu hydrotermickej stability acesulfamu K v modelových zmesiach s vybranými organickými kyselinami. Stanovenie acesulfamu K izotachoforézou sa vypracovalo UV spektrofotometriou.

Materiál a metódy

Na analytické stanovenie sme mali k dispozícii acesulfam K, ktorý v rámci výskumu syntézy pripravili na Katedre organickej chémie Chemickotechnologickej fakulty SVŠT v Bratislave. Jeho štruktúra sa potvrdila IČ a ¹H NMR spektrami [7].

Vo vlastnej experimentálnej práci sme analyzovali ekvimolárne zmesi ($0,5 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹) acesulfamu K a organických kyselín (kyseliny citrónovej, mliečnej, jablčnej, glutárovej a jantárovej) a vybrané nealkoholické nápoje (pomarančový džús ZEUS, MIRINDA tonic, CHITO tonic, LIMO pomarančové, PERLA pomarančová, minerálka BUDIŠSKÁ s prísadou sirupu, džús PIRUETA). V modelových dvojzložkových zmesiach sme študovali možnosti rušivého vplyvu jednotlivých druhov organických kyselín na vlastné stanovenie acesulfamu K, ako aj stabilitu tohto sladidla pri teplote 100 °C v zatavených skúmavkách. Nealkoholické nápoje sme obohacovali acesulfamom K v množstve g.l⁻¹, riedili redestilovanou vodou v pomere 1:100, prefiltrovali a dávkovali do izotachoforetického analyzátora.

Podmienky stanovenia – izotachoforéza. Pracovali sme na izotachoforetickom analyzátore ZKI 001 vyrobenom v Ústave rádioekológie a využitia jadrovej techniky v Spišskej Novej Vsi. Na analýzu sme použili elektrolytový systém:

vodiaci elektrolyt	$1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ HCL β -alanín,
	0,1 % HEC, pH 3,05,
zаконčujúci elektrolyt	$5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ CH ₃ COOH, TRIS,
	pH 4,05,
hnací prúd v predseparačnej kapiláre	200 μ A,
hnací prúd v analytickej kapiláre	40 μ A.

Vzorky sa dávkovali do izotachoforetického analyzátora dávkovacím kohútom v množstve 30 μ l.

Podmienky stanovenia – UV spektrofotometria. Acesulfam K sme stanovili meraním absorbancie sladidla pri $\lambda_{\text{max}} = 227 \text{ nm}$ na prístroji Specord M 40 (Zeiss Jena) za týchto podmienok:

spektrálna šírka štrbiny	0 cm^{-1} ,
integračný čas	1 s,
zosilnenie	3.

Výsledky a diskusia

Pri izotachoforetickej metóde problematika stanovenia spočíva v úlohe nájsť vhodný elektrolytický systém, ktorým by bolo možno stanoviť anionickú formu molekuly acesulfamu K. Na základe pokusov sme na analýzu acesulfamu K použili elektrolytický systém, ktorého vodiaci elektrolyt má pH 3,05. Za týchto podmienok sa dosiahla dobrá separácia sledovaného sladidla do prítomných organických kyselín v modelových zmesiach i nealkoholických nápojov. Výsledky stanovenia acesulfamu K v rámci štúdia hydrotermickej stability a sledovania jeho degradácie sa stanovovali dvoma metódami – izotachoforézou a UV spektrofotometriou (tab. 1). Stabilita organických kyselín sa určovala izotachoforézou.

Zmeny koncentrácie acesulfamu K v modelových zmesiach s organickými kyselinami sme sledovali v priebehu niekoľkých dní pri 100 °C, kým nedošlo k úplnému odbúraniu sladidla. Vysokú teplotu sme zvolili na urýchlenie hydrotermického rozkladu. Z údajov uvedených v tabuľke 1 je zrejmé, že výsledky získané zo sledovania acesulfamu K oboma metódami sa dajú porovnať. Hodnoty koncentrácie acesulfamu K zistené spektrofotometricky sú o niečo vyššie v porovnaní s izotachoforetickou metódou, čo vyplýva z princípu metód. Pri izotachoforéze došlo k úplnej separácii zložiek a tým aj k ich objektívnejšiemu stanoveniu. Pri spektrofotometrii je výsledok skreslený o príspevok absorbancie prostredia pravdepodobne spôsobovaný degradačnými produktmi sladidla. Z tabuľky 1 vidieť, že rýchlosť odbúrania acesulfamu K je rýchlejšia v prostredí kyseliny citrónovej. Z izotachoforeogramov (obr. 1)

T a b u l k a 1. Porovnanie dvoch metód stanovenia acesulfamu K vo vodných roztokoch v priebehu sledovania jeho degradácie v ekvimolárnej zmesi s organickými kyselinami ($0,5 \cdot 10^{-3}$ mol . l⁻¹) pri 100 °C

T a b l e 1. The comparison of two methods for the determination of Acesulfam K in aqueous solutions during the investigation if its degradation in equimolar mixture with organic acids ($0,5 \times 10^{-3}$ mol l⁻¹) at 100°C

Deň analýzy ¹	Acesulfam K ² [mg . l ⁻¹]		Organické kyseliny ³ A [mg . l ⁻¹]
	A	B	kys. jantárová ⁴
0	100	100	59,4
1	85,6	86,1	60,0
2	76,2	75,6	60,1
3	58,7	59,3	60,0
			kys. jablčná ⁵
0	100	100	67
1	56,8	62	66,1
2	32,7	37	68,2
3	0,17	0,17	64,0
			kys. mliečna ⁶
0	100	100	48
1	51,2	58,3	49
2	26,8	31,6	50
3	18,3	15,8	48
			kys. citrónová ⁷
0	100	100	100
1	26,5	31,8	87
2	14,7	19,0	86
3	–	–	–
			kys. glutárová ⁸
0	100	100	60,9
1	97,1	90,1	58,8
2	87,2	81,4	60,9
3	62,3	67,1	58,8
4	44,9	49,2	60,9

A – izotachoforéza; Isotachophoresis.

B – UV spektrofotometria; UV spectrophotometry.

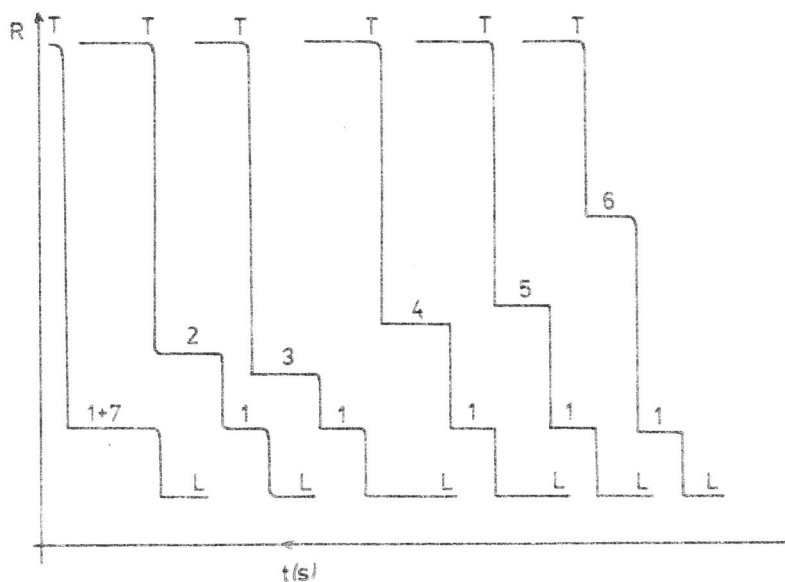
¹Day of analysis; ²Acesulfam K; ³Organic acids; ⁴Succinic acid; ⁵Malic acid; ⁶Latic acid; ⁷Citric acid; ⁸Glutaric acid.

vyplýva, že kyselina citrónová, jablčná, mliečna, jantárová a glutárová nerušila stanovenie acesulfamu K. V tomto systéme stanovenie rušila iba kyselina malónová, ktorá vytvárala s acesulfamom K zmesnú zónu. Prítomné organické kyseliny v priebehu hydrotermickej degradácie sladidla zostávali približne

stabilné, mierny pokles koncentrácie sme zaznamenali iba v prípade kyseliny citrónovej, ktorá sa vplyvom tepla rozkladá na nenasýtené 3-karboxylové kyseliny – kyselinu akonitovú, jej anhydrid a po dekarboxylácii na anhydrid kyseliny citrakónovej a itakónovej [8].

Metódu na stanovenie acesulfamu K sme overovali aj na praktických vzorkách. V tabuľke 2 sú výťažnosti stanovenia acesulfamu K vo vybraných nealkoholických nápojoch s prídavkom 1 g.l^{-1} . Zaznamenané hodnoty sú priemerným výsledkom 3 meraní, iba pri pomarančovom džúse ZEUS sa urobilo 10 analýz. Z výsledkov vidieť, že pri nápojoch nedreňového typu sa dosiahla vyššia výťažnosť stanovenia (98–99 %), kým pri nápojoch dreňového typu (džúsov) bola výťažnosť stanovenia acesulfamu K pod 96 %. Možno predpokladať, že dochádza k parciálnej väzbe, resp. absorpcii acesulfamu K na určité zložky v dreňových nápojoch, a tým aj k poklesu výťažnosti.

Metóda kapilárnej izotachofórey na stanovenie acesulfamu K sa štatisticky vyhodnotila na vzorke pomarančového džúsu ZEUS, fortifikovaného acesulfamom K v množstve 1 g.l^{-1} . Z desiatich meraní sa určil interval spoľahlivosti



Obr. 1. Stanovenie acesulfamu K v ekvimolárnych zmesiach s organickými kyselinami ($0,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$). 1 – acesulfam K, 2 – kyselina jablčná, 3 – kyselina citrónová, 4 – kyselina glutárová, 5 – kyselina mliečna, 6 – kyselina jantárová, 7 – kyselina malónová. L – vodiaci elektrolyt, T – končujúci elektrolyt.

Fig. 1. The determination of Acesulfam K in equimolar mixtures comprising organic acids ($0,5 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$). 1 – Acesulfam K, 2 – Malic acid, 3 – Citron acid, 4 – Glutaric acid, 5 – Lactic acid, 6 – Succinic acid, 7 – Malonic acid, L – Leading electrolyte, T – Terminator.

T a b u l k a 2. Výťažnosť stanovenia acesulfamu K vo vybraných nealkoholických nápojoch s prídavkom acesulfamu K ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) metódou kapilárnej izotachofórey

T a b l e 2. The recovery of Acesulfam K using the capillary isotachopheresis in chosen soft drinks containing Acesulfam K ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$)

Vzorka ¹	Stanovené množstvo ² [g · l ⁻¹]	Priemerná výťažnosť ³ [%]
Pomarančový džús ZEUS ⁴	0,959	95,9
Minerálka Budišská s prísadou sirupu ⁵	0,967	96,7
CHITO tonic ⁶	0,986	98,6
LIMO pomaranč ⁷	0,981	98,1
PERLA pomaranč ⁸	0,997	99,7
MIRINDA tonic ⁹	0,981	98,1
PIRUETA džús ¹⁰	0,945	94,5

¹Sample; ²Determined quantity; ³Medium recovery; ⁴Orange juice ZEUS; ⁵Mineral water „Budišská“ with syrup; ⁶CHITO tonic; ⁷LIMO orange; ⁸PERLA orange; ⁹MIRINDA tonic; ¹⁰PIRUETA juice (4–10 are names of soft drinks).

pre 95 % hladinu pravdepodobnosti ($0,959 \pm 0,0027$), smerodajná odchýlka (0,0429), relatívna smerodajná odchýlka (4,4 %) a detekčný limit ($0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Metóda dávala dobré výsledky. Treba zdôrazniť, že na reprodukovateľnosť výsledkov vplyva pomerne malá zmena pH vodiaceho elektrolytu, ako aj malá trvanlivosť nápojov počas skladovania.

Vypracovaná izotachforetická metóda na stanovenie acesulfamu K v kvapalných vzorkách sa osvedčila na stanovenie tohto syntetického sladidla. Je vhodná na sériovú analýzu, na štúdium stability tohto sladidla a kontrolu jeho analytickej čistoty na požadovanej úrovni. Metóda poskytuje rýchle a spoľahlivé výsledky, porovnateľné aj s ostatnými metódami.

Literatúra

- [1] KAISER, K. – HUPF, H., Dtsch. Lebensm. – Rdsch., 75, 1979, č. 11, s. 345.
- [2] ZACHE, U. – GRUNDIG, H., Z. Lebensm. – Unters. Forsch., 184, 1987, s. 503.
- [3] LIPINSKI, W. R., Food Chem., 16, 1985, s. 259.
- [4] SUHAJ, M. – KOVÁČ, M. – UHER, M. – VACOVÁ, T., Bull. PV, Special Issue, 1986, s. 13.
- [5] SUHAJ, M. – ŠPAŇÁR, M. – KOVÁČ, M., Bull. 26(6), 1987, č. 1, s. 21.
- [6] SUHAJ, M. – KOVÁČ, M. – SZOKOLAY, A. – VACOVÁ, T. – UHER, M.: Stabilita acesulfamu K v podmienkach potravinárskeho uplatnenia Zborník prednášok Laboralim '86. Banská Bystrica 1986.
- [7] KOVÁČ, M. – UHER, M. – VACOVÁ, T.: Prieskum syntézy niektorých syntetických sladidiel. II. Záverečná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1985.
- [8] DAVÍDEK, J. – JANÍČEK, G. – POKORNÝ, J.: Chemie potravin. Praha, SNTL – Bratislava, Alfa 1983.

Определение ацесульфам К методом капиллярного изотахофореза

Резюме

Целью этой работы была разработка аналитического метода для определения ацесульфам К при использовании метода капиллярного изотахофореза, его проверка на практических пробах безалкогольных напитков, при изучении гидротермической устойчивости ацесульфам К и его деградации в эквимольных смесях с избранными органическими кислотами. Ацесульфам К, определенный изотахофорезом, был сравниван методом Уф спектрофотометрии. Метод капиллярного изотахофореза дает быстрые результаты и является удобным для серийного анализа и контроля аналитической чистоты этого сладкого вещества.

The determination of Acesulfam K using the capillary isotachopheresis

Summary

The elaboration of the analytical method for the determination of Acesulfam K using the capillary isotachopheresis was the aim of this work. The verification of the mentioned method using samples of soft drinks is described in this paper, as well as the hydrothermic stability of Acesulfam K and its degradation in equimolar mixtures containing some organic acids. The behaviour of Acesulfam K investigated by the isotachopheresis was compared with the results obtained by UV spectrophotometry. The capillary isotachopheresis gives rapid results and it is appropriate for routine analysis as well as for the analytical purity testing of Acesulfam K.