

Размещено на /

**Реферат**

На тему:

«Харчова добавка аспартам E951»

## 1. Загальна характеристика аспартаму

**Аспартам** – штучний підсолоджувач, замінник цукру (харчова добавка E951). Метилловий ефір дипептиду, що складається із стандартних амінокислот: аспарагінової і фенілаланіну.

**Історія виникнення:** Аспартам був відкритий в 1965 р. Джеймсом М. Шлаттером, хіміком, що працював на компанію G.D. Searle & Company. Шлаттер синтезував аспартам у ході досліджень для виробництва ліків від язви. Він виявив солодкий смак аспартама випадково, облизнувши палець, на який потрапив аспартам. Першими стали застосовувати аспартам в США й Великобританії– з 1981 року. Випускає під різними торгівельними марками (наприклад, Equal, Spoonful), аспартам оголошений альтернативою цукру, що дозволяє не набирати вагу і не є канцероген, як використовуваний раніше штучний підсолоджувач – сахарин.

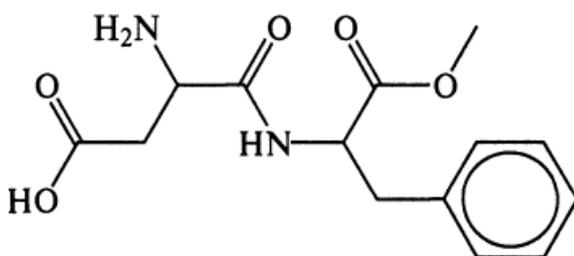
**Синоніми:** Сладекс, нутрасвіт, N-L-б-аспартил-L-фенілаланінметилловий ефір; *англ.* aspartame, АРМ.

Хімічна назва: 3-аміно-N – (б-карбометоксі-фенетіл) – сукцинамової кислоти.

Емпірична формула:  $C_{14}H_{18}N_2O_5$ .

Молекулярна маса: 294,30.

Структурна формула:



**Органолептичні властивості:** Білі, слабо гігроскопічні кристали без запаху з інтенсивним солодким смаком, приблизно в 200 разів солодший сахарози, побічний присмак відсутній.

**Фізико-хімічні властивості:** Не зовсім стабільний до гідролізу, особливо при нагріванні.  $T_{пл} = 246-247^{\circ}C$ , розкладання починається при  $196^{\circ}C$ . Легко розчиняється в гарячій воді; середньо розчиняється в холодній воді, спиртах; нерозчинний у жирних розчинниках.

Таблиця 1. Специфікація

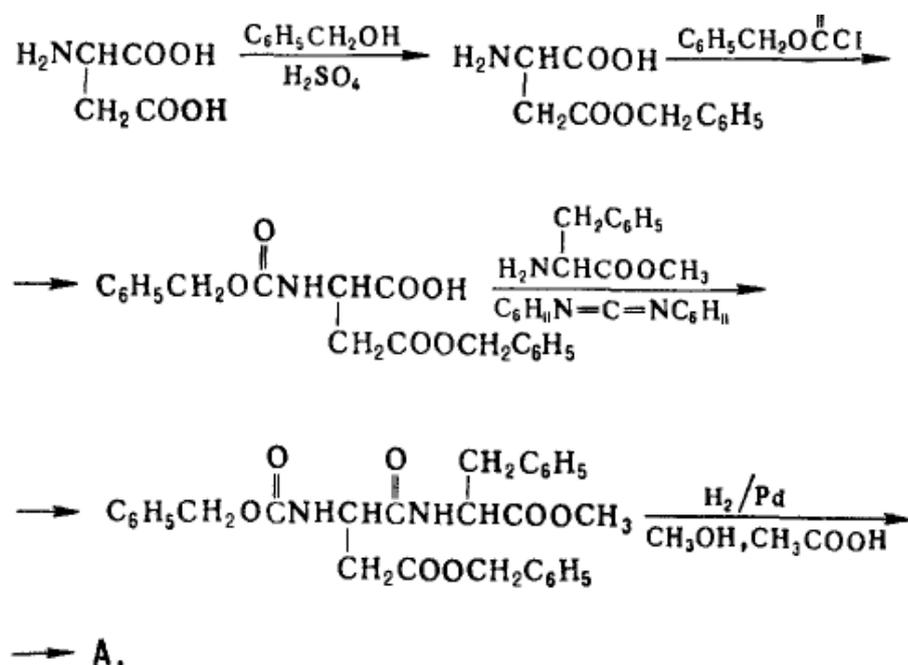
Показник	ПЧР5	РСС1В
Вміст аспартама, % СВ	98,0–102,0	98,0–102,0
pH (1 до 125 частикам води)	4,5–6,0	-
Уд. обертання $\alpha_D^{20}$ , град.	14,5–16,5	14,5–16,5
Втрати при сушінні, %, не більше	4,5	4,5
Сульфатна зола, %, не більше	0,2	0,2
5-Бензил – 3,6 – діоксо-2-піперазин-оцтова кислота, %, не більше	1,5	1,5
Аз/тяж, металів, мг/кг, не більше	3/10	-/10

**Метаболізм і токсичність:** Аспартам розщеплюється на L-амінокислоти і метанол, які нормально всмоктуються й повністю метаболізуються. У результаті побічної реакції утворюється дикетопіперазин (ДКП) із власним значенням ДСП. Утримування фенілаланіну (близько 60%) може завдати шкоди хворим фенілкетонуриєю і вимагає спеціального нанесення інформації на етикетку харчового продукту (Фенілкетонурія – дуже рідкісний (1:15 000) генетичний дефект, що вимагає спеціальної дієти).

## 2. Метод отримання

Аспартам отримують синтезом з L – амінокислот:  
аспарагінової кислоти  
фенілаланіна.

Схема отримання аспартаму:



Домішки: дикетопіперазин (продукт розпаду).

### Кольорові реакції

Устаткування, прилади й реактиви: водяна баня, спиртівка, 10% розчин NaOH, 1% розчин CuSO<sub>4</sub>, 0,2% розчин нінгідрину, концентрована азотна кислота, 0,5% розчин аспартама.

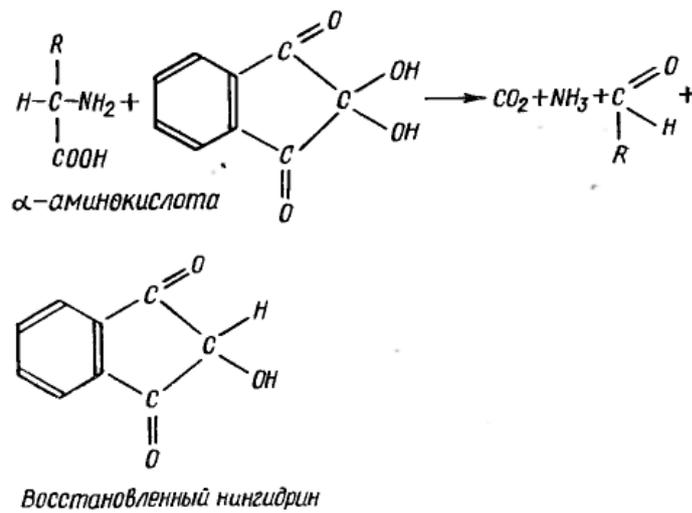
Біуретова реакція. У лужному середовищі білки, а також продукти їхнього гідролізу – поліпептиди дають фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення із солями міді. Реакція обумовлена наявністю пептидних зв'язків (-NHCO-). Позитивна біуретова реакція проявляється в з'єднаннях, що містять не менш двох пептидних груп. Інтенсивність забарвлення залежить від довжини пептиду і варіює від синьо-фіолетового до червоно-фіолетового й червоного.

Біуретову реакцію дають також аспарагін (амід аспарагінової кислоти) і амінокислоти гістидин, треонін і серін.

Свою назву реакція одержала від біурета – з'єднання, що утворюється при нагріванні сечовини. Ця реакція супроводжується відщипленням молекули аміаку.

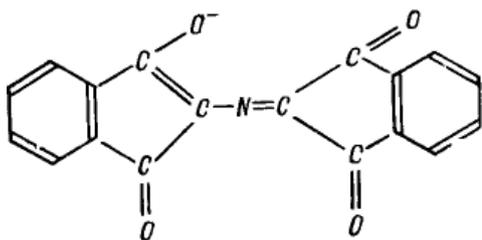


фіолетового кольорів (при нагріванні). Нінгідринова реакція є однією з найбільш чутливих для виявлення β-аміногруп.



Сутність реакції полягає в тому, що β-амінокислоти і пептиди, реагуючи з нінгідрином, піддаються окисному дезамінуванню і декарбоксілюванню:

Відновлений нінгідрин взаємодіє з аміаком і другою молекулою нінгідрину, утворюють зафарбоване з'єднання (пурпурний Руеманна).



Техніка виконання роботи: до 5–10 крапель розчину аспартама додають 6–10 краплі 0,2% розчину нінгідрину. Нагрівають до кипіння на водяній лазні. З'являється фіолетово-синє забарвлення за рахунок утворення продукту конденсації нінгідрину з амінокислотою.

Ксантопротеїнова реакція. Характерна для деяких ароматичних амінокислот. При нагріванні білків і поліпептидів з концентрованою азотною кислотою утвориться нітросполука жовтого кольору.

Реакція протікає у дві стадії. Протягом першої амінокислота, взаємодіючи з концентрованою азотною кислотою, піддається нітруванню. При цьому утвориться динітросполука (жовтого кольору).

В другій стадії продукти нітрування реагують із їдким натром або гідроксидом амонію з утворенням натрієвої або амонійної солі, що має жовто-помаранчеве забарвлення.

Ксантопротеїнову реакцію, крім білків, пептидів і циклічних амінокислот, дають також багато простих ароматичних з'єднань (бензол, фенол і ін.).

Техніка виконання роботи: до 0,5 молярного розчину аспартаму додають 5–6 краплі концентрованої азотної кислоти. Обережно нагрівають. При наявності в розчині циклічних амінокислот або білків, у яких присутні ці амінокислоти, з'являється жовте забарвлення за рахунок нітрування бензольного кільця.

Після охолодження в пробірку обережно (по стінці) доливають надлишок концентрованого розчину аміаку або їдкого натру – рідина приймає помаранчевий або жовтий колір.

### **3. Кількісне визначення**

#### *1. Хроматографічний метод.*

Метод заснований на використанні високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Метод є арбітражним.

Обладнання і реактиви: високоефективний рідкісний хроматограф з програматором лінійного виміру швидкості потоку, обладнаний спектрофотометричний детектор з довжиною хвилі 210 нм; колонки хроматографічні; установка для вакуумної фільтрації; мікрошприці хроматографічні; папір фільтрувальний; ваги лабораторні; рН-метр; мірні колби; градуювальні піпетки; скляний рідинний термометр; бідистильована

вода; ацетонітрил; калій фосфорнокислий однозаміщений; бензоат натрію; аспартам; ортофосфорна кислота.

Підготовка до випробування:

а). Приготування градуювального розчину аспартаму (550 мг/дм<sup>3</sup>).

Наважку аспартаму масою 137,5 мг переносять у мірну колбу місткістю 250 см<sup>3</sup>, до половини заповнену бідистильованою водою температурою 30–35 °С. Перемішують до повного розчинення, потім бідистильятом доводять до мітки.

б). Приготування градуювального розчину аспартаму (275 мг/дм<sup>3</sup>).

Відміряють піпеткою 2 см<sup>3</sup> градуювального розчину аспартаму концентрацією 550 мг/дм<sup>3</sup> переносять у мірну колбу місткістю 50 см<sup>3</sup> і доводять до мітки бідистильованою водою, добре перемішують.

в). Приготування градуювального розчину аспартаму (138 мг/дм<sup>3</sup>).

Відміряють піпеткою 25 см<sup>3</sup> концентрацією 550 мг/дм<sup>3</sup> переносять у мірну колбу місткістю 100 см<sup>3</sup> і доводять до мітки бідистильованою водою, добре перемішують.

Приготування рухомої фази:

1,73 г. калія фосфорнокислого однозаміщеного (КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>) помішують у мірну колбу місткістю 1000 см<sup>3</sup>, розчиняють в бідистильованій воді, перемішують до повного розчинення. Отриманий розчин ортофосфорної кислоти (Н<sub>3</sub>РО<sub>4</sub>) доводять до мітки рН 3,2 850 см<sup>3</sup> отриманого буферного розчину змішують із 150 см<sup>3</sup> ацетонітрилу (С<sub>2</sub>Н<sub>3</sub>), попередньо відфільтрувавши їх через фільтрувальний папір діаметром пор 0,5 мкм.

Термін придатності рухливої фази – не більше 7 діб.

Умови хроматографічного аналізу:

Колонка з фазою С – 18,5 – 6 мкм, 0,15 \* 4,6 мм.

Рухома фаза: 15% ацетонітрилу, 85% 0,0125 М розчину КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, доведеного фосфорною кислотою до рН 3,2.

Швидкість потоку: лінійний градієнт від 1,2 см<sup>3</sup>/хв до 1,7 см<sup>3</sup>/хв за 8 хв.

Температура термостату – 35 °С.

Тиск на колонці при швидкості потоку – 1,2 см<sup>3</sup>/хв – 120 кг/см<sup>2</sup> (тиск буде зростати по мірі експлуатації колонки).

Знаходження за поглинанням в УФ-області спектру при довжині хвилі 210 нм 0,02 од. адсорбції на всю шкалу.

Обробка результатів:

Масову долю аспартаму розраховують за формулою

$$X = K \cdot \frac{S}{V},$$

де К – поправочний коефіцієнт, установлюваний за загально прийнятими правилами для методу «абсолютної градуїровки»;

S – площа піку досліджуваного компонента, відповідна до певної масової концентрації компонента, мг;

V – об'єм аналізуємої проби, дм<sup>3</sup>;

Розрахунки проводять до другого десятичного знаку.

За кінцевий результат дослідження приймають середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень.

## *2. Спектрофотометричний метод.*

Метод заснований на визначені аспартаму у безалкогольних напоях безпосередньо після їх виготовлення за допомогою спектрофотометру. Цей метод не може бути використаний для напоїв, в склад яких входять амінокислоти і речовини білкової природи.

Обладнання і реактиви: спектрофотометр; колориметр фотоелектричний; ваги лабораторні; аспартам; натрій фосфорнокислий двузаміщений; калій фосфорнокислий однозаміщений; нінгідрин (х.ч.); фруктоза (ч.д.а.); ректифікований етиловий спирт; папір фільтрувальний; ваги лабораторні; рН-метр; мірні колби; градуювальні піпетки; скляний рідиний термометр; електроплитка побутова; водяна баня; механічний годинник.

Приготування буферного розчину:

Наважку натрію фосфорнокислого однозаміщеного ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) масою 28,870 г. переносять у мірну колбу на  $1000\text{cm}^3$ , розчиняють в дистильованій воді, доводять до мітки і перемішують до повного розчинення.

Наважку калію фосфорнокислого однозаміщеного  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)_3$  масою 4,535 г. переносять у мірну колбу на  $500\text{cm}^3$ , розчиняють в дистильованій воді, доводять до мітки і перемішують до повного розчинення. В конічній колбі змішують  $484,5\text{cm}^3$  розчину  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  і  $15,5\text{cm}^3$  розчину  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . При необхідності доводять рН буферної суміші даними розчинами до  $(8,0 \pm 0,1)$  одиниць.

Приготування нінгідринового розчину:

Розчиняють в  $500\text{cm}^3$  буферного розчину 1,5 г фруктози, після чого розчиняють у ньому 2,5 г нінгідрину.

Приготування базового розчину аспартаму:

20 мг аспартаму розчиняють при перемішуванні і нагріванні до  $50\text{--}70\text{cm}^3$  дистильованої води. Розчин переливають у мірну колбу місткістю  $100\text{cm}^3$  і доводять до мітки дистильованою водою.

Приготування ряду робочих розчинів аспартаму для побудови градувального графіку:

В пробірках місткістю по  $10\text{cm}^3$  кожна, готують робочі розчини аспартаму, об'єм і концентрація яких вказана в таблиці 1.

Таблиця 2

Назва показника	Номер пробірки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Об'єм базового розчину аспартаму, додають у пробірку, $\text{cm}^3$	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	-
Об'єм дистильованої води, додають в пробірку, $\text{cm}^3$	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	4,5	10
Концентрація аспартаму у робочому розчині, $\text{mg/cm}^3$	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	-

Умови проведення аналізу:

Температура базового, робочих розчинів аспартаму, буферного розчину, нінгідринового розчину і розчину етилового спирту –  $(18,0 \pm 2,0)$  °С.

рН розчину нінгідрину –  $(8,0 \pm 0,1)$  од.

Вміст аспартаму необхідно визначати після розливу напою.

Нінгідриновий розчин повинен зберігатися у коричневому скляному посуді в холодильнику. Він може використовуватися протягом двох недінь після приготування.

#### Побудова градуювального графіку:

Для побудування градуювального графіку в окремі пробірки переносять по  $6 \text{ см}^3$  кожного робочого і до них додають  $3 \text{ см}^3$  нінгідринового розчину.

Пробірки витримують 16 хв. в киплячій бані, потім за 20 хв охолоджують до  $(20 \pm 1)$  °С, після чого із кожної пробірки в окрему пробірку переносять по  $3 \text{ см}^3$  розчину, до якого додають по  $5 \text{ см}^3$  етилового спирту з об'ємною долею 60%.

Оптичну густину розчину визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 570 нм в кюветі товщиною 10 мм. Контрольним розчином служить розчин пробірка №9 (нульового розчину) і етилового спирту з об'ємною долею 60%, змішують в таких самих кількостях, як і інші проби.

#### Проведення аналізу:

В досліджуваних зразках напоїв видаляють вуглекислий газ при температурі не вище 20 °С і фільтрують зразки через фільтр розміром пор не більше 0,5 мкм.  $20 \text{ см}^3$  профільтрованої проби переносять у мірну колбу місткістю  $100 \text{ см}^3$  і доводять дистильованою водою до мітки.

В пробірку місткістю  $10 \text{ см}^3$  переносять по  $6 \text{ см}^3$  кожного розбавленого зразка і до них добавляють по  $3 \text{ см}^3$  нінгідринового розчину.

Пробірку витримують 16 хв в киплячій бані, потім за 20 хв охолоджують до 20 °С, після чого із кожної пробірки в окрему пробірку переносять по  $3 \text{ см}^3$  розчину, до якого додають по  $5 \text{ см}^3$  розчину етилового спирту з об'ємною долею 60%.

Оптична густина розчину досліджуваних зразків визначають порівнюючи з нульовою пробою на спектрофотометрі при довжині хвилі 570 нм в кюветі товщиною 10 мм.

#### Обробка результатів:

Концентрацію аспартаму в розбавлених зразках досліджуваного напою визначають по оптичним густинам зразків.

Концентрація аспартаму  $C$ , мг/100 см<sup>3</sup>, в напоях визначають за формулою:

$$C = C_p \cdot K$$

де  $C_p$  – концентрація аспартаму в розбавлених зразках, мг/100 см<sup>3</sup>;

$K$  – ступінь розбавлення.

#### **4. Застосування аспартаму в харчовому виробництві**

**Гігієнічні норми:** ДДН 40 мг/кг ваги тіла в день. Небезпека по ГН-98: ГДК у повітрі робочої зони 2 мг/м<sup>3</sup>, клас небезпеки 3; ГДК у воді 1,0 мг/л, клас небезпеки 4. ЄС: відповідно до Директиви по підсолоджувачам (червень 1994) дозволений в 12 групах харчових продуктів, низькокалорійних або без цукру, і в 12 групах продуктів, споживаних у малій кількості – до 4000 мг/кг. У РФ дозволений у жувальній гумці із цукром як підсилювач смаку й аромату в кількості до 2,5 г/кг (п. 3.14.9 СанПіН 2.3.2.1293–03); у безалкогольних напоях на основі ароматизаторів, фруктових соків, молочних продуктів без додавання цукру або зі зниженою калорійністю, напоях алкогольних з утримуванням спирту не більше 15 об.%, напоях, що містять суміш безалкогольних напоїв і пива або сидру, вина, лікєро-горілочаних виробів, біологічно активні добавки до їжі рідкі в кількості до 600 мг/кг; у десерти ароматизовані на водній основі, на зерновій, фруктовій, овочевій, молочній,

яєчній і жировій основі без додавання цукру або зі зниженою калорійністю, кондитерські вироби зі зниженою калорійністю або без додавання цукру, сендвічі з начинкою на основі какао, молочних продуктів, сухофруктів, жиру, фруктах консервованих зі зниженою калорійністю або без додавання цукру, джемах, варенні, мармеладі зі зниженою калорійністю, продуктах переробки фруктів і овочів зі зниженою калорійністю, сухих сніданків із зернових з утримуванням харчових волокон більше 15% або отрубів не менш 20% у кількості до 1 г/кг; у сухих закусках і сніданках у кількості до 500 мг/кг; у кондитерських виробках зі зниженою калорійністю або без додавання цукру на основі крохмалю, какао, сухофруктів, біологічно активних добавках до їжі твердих у кількості до 2 г/кг; у жувальній гумці без додавання цукру, біологічно активних добавках до їжі – вітамінах і мінеральних речовинах у формі сиропів і жувальних таблеток у кількості до 5,5 г/кг; у морозиві (крім вершковому й молочного), фруктовому льоді зі зниженою калорійністю або без додавання цукру, спеціалізованих дієтичних продуктах для зниження маси тіла в кількості до 800 мг/кг; у фруктові й овочевих кисло-солодких консервах, кисло-солодких консервах з риби, рибних маринадів, ракоподібних і молюсків у кількості до 300 мг/кг; у соусах і гірчиці в кількості до 350 мг/кг; у здобних хлібобулочні й борошняних кондитерських виробках для дієтичного харчування в кількості до 1,7%; у супах зі зниженою енергетичною цінністю в кількості до 110 мг/кг; в «прохолодних» (освіжаючих подих) цукерках (таблетках) без додавання цукру в кількості до 6 г/кг; у пиво зі зниженою енергетичною цінністю в кількості до 25 мг/кг (п. 3.15.1 СанПіН 2.3.2.1293–03); для роздрібного продажу (п. 2.1 СанПіН 2.3.2.1293–03).

**Застосування:** Основними областями використання є виробництво напоїв, молочних продуктів, кондитерських виробів. Часто застосовується в складі суміші підсолоджувачів. Добре сполучається з ацесульфамом К. При цьому проявляється не тільки кількісний, але і якісний синергізм. Обидві речовини приблизно в 200 разів солодше цукру, а в суміші – в 300 разів.

/

Солодкість ацесульфама відчувається миттєво, але не дуже довго, солодкість аспартама, навпроти, відчувається не відразу, але тримається довше. Суміш обох в різних пропорціях дозволяє підібрати оптимальну насолоду для будь-якого продукту. Для варіння й випічки, а також для кислих харчових продуктів із тривалим строком зберігання (соуси, гірчиця) аспартам непридатний, тому що розщеплюється на складові, втрачаючи при цьому свої функції. У дуже невеликих дозах може проявляти властивості підсилювача смаку.

## Список літератури

1. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб: ГИОРД, 2004, – 808 с.
2. Д.К. Шапиро. Практикум по биологической химии. Под ред. А.С. Вечера. Изд 2-е, перераб. и доп. Минск, «Вышэйш. школа», 1976. – 288 с.
3. Гост 30059–93 Напитки безалкогольные. Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия.
4. Химическая энциклопедия: в 5 т.:т. 1: А Дарзана / Редкол.:Кнуняц И.Л. (глав. ред.) и др. – М.: Сов.энцикл. 1988. – 623 с.
5. Орлова Н.Я. «Фізіологія та біохімія харчування» – К.:Київ. Державний торговельно-економічний університет, 2001. – 248 с.
6. Пищевая химия/ Нечаев А.П., Траунберг С.Е., Кочеткова А.А. и др. Под ред. А.П. Нечаева. – СПб.:ГИОГД, 2001. – 592 с.