

Anna Rój, Ewa Stasiuk

OZNACZENIA JAKOŚCIOWE W ZAKRESIE ZAWARTOŚCI ASPARTAMU I JEGO METABOLITÓW W NAPOJACH GAZOWANYCH BEZALKOHOLOWYCH Z ZASTOSOWANIEM TECHNIKI HPLC

Katedra Towaroznawstwa i Ładunkoznawstwa
Wydziału Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. inż. P. Przybyłowski

W pracy przedstawiono oznaczenie zawartości aspartamu, diketopiperazyny i fenyloalaniny w napojach z zastosowaniem techniki HPLC UV/VIS (DAD). Materiał badawczy stanowiły następujące grupy napojów słodzonych aspartamem i acesulfamem K: cola, oranżada, napoje o smaku owocowym i napoje energetyzujące. Oznaczenia wykazały zróżnicowaną zawartość aspartamu i jego metabolitów w badanych grupach napojów. Dietetyczna oranżada charakteryzowała się najniższą średnią zawartością diketopiperazyny spośród badanych napojów. Najwyższy średni poziom metabolitów aspartamu, przy najniższej średniej zawartości aspartamu oznaczono w grupie napojów energetyzujących. Zawartość aspartamu w oznaczanych napojach była zgodna z wymaganiami polskich uregulowań prawnych, tj. poniżej 600 mg/l.

Hasła kluczowe: α -aspartam, słodziki, napoje gazowane bezalkoholowe, bezpieczeństwo żywności.

Key words: α -aspartame, sweeteners, drinks, foods safety.

Napoje gazowane bezalkoholowe, słodzone substancjami intensywnie słodzącymi, mogą mieć znaczący udział w diecie osób redukujących ilość spożywanych kalorii oraz diabetyków. W niniejszej pracy przedstawiono poziomy zawartości aspartamu i jego metabolitów (L-fenyloalaniny i diketopiperazyny) w napojach bezalkoholowych słodzonych aspartamem i acesulfamem K, dostępnych na rynku trójmiejskim. Oznaczania wykonano z zastosowaniem techniki HPLC UV/VIS (DAD). Wszystkie badane napoje nie wykazały znaczącego wpływu na zagrożenie bezpieczeństwa zdrowotnego konsumenta, w aspekcie zawartości aspartamu i jego metabolitów.

Napoje gazowane bezalkoholowe regulują gospodarkę wodno-mineralną organizmu, pełnią m.in. funkcje gaszenia pragnienia i orzeźwiająco. Stanowią znaczący udział w diecie człowieka. Spożycie ich gwałtownie wzrasta w okresie letnim, przy wysokich temperaturach otoczenia. Wobec powyższego jakość napojów jest bardzo istotnym czynnikiem mającym wpływ na bezpieczeństwo zdrowotne konsumenta. Rynek napojów jest niezwykle bogaty. Konsument ma do wyboru różne typy napo-

jów, słodzone w sposób tradycyjny lub słodzone substancjami intensywnie słodzonymi. Ta druga grupa pełni rolę napojów funkcjonalnych, ponieważ jest dedykowana osobom kontrolującym ilość spożywanych kalorii oraz konsumentom ze wskazaniami medycznymi. Oprócz pozytywnych aspektów stosowania słodzików, mogą być implikowane również negatywne skutki stosowania tych substancji. Doniesienia literaturowe wskazują na możliwość negatywnego oddziaływania aspartamu na organizm człowieka. Istnieją sugestie, że wysokie dawki aspartamu mogą wywołać zawroty głowy, zaburzenia neurologiczne, zmiany w mózgu, łącznie ze zmianami nowotworowymi, a także mogą wpływać na pogłębienie powikłań cukrzycowych u ludzi chorych. Znaczną część negatywnych oddziaływań przypisuje się diketopiperazynie – jednemu z metabolitów aspartamu. Nie bez znaczenia jest możliwość obecności fenyloalaniny w produktach słodzonych aspartamem, ze względu na grupę konsumentów wrażliwych, wykazujących nietolerancję tego związku. Stabilność aspartamu w suchych produktach jest relatywnie dobra lecz aspartam posiada umiarkowaną stabilność w roztworach wodnych, ponieważ może ulegać hydrolizie tracąc swoją funkcję słodzącą. Bardzo istotnymi czynnikami wpływającymi na stabilność aspartamu w roztworach wodnych są: temperatura, wartość współczynnika pH, a także czas przechowywania. Poniżej pH = 3 α -aspartam hydrolizuje do L- α -aspartyl-L-fenyloalaniny, zaś powyżej pH = 6 cyklizuje do formy diketopiperazyny (1–6).

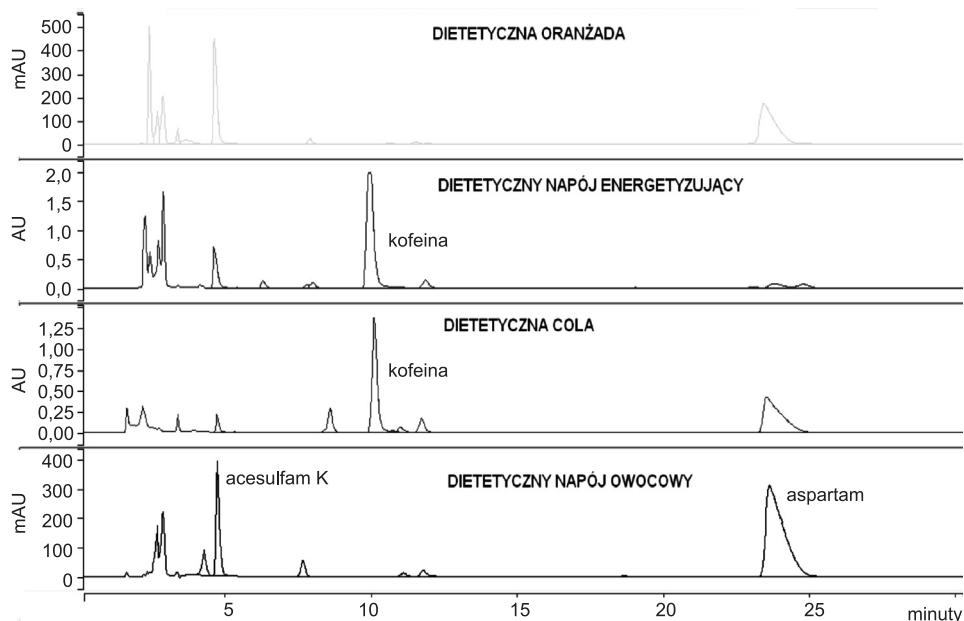
Ustalone (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) dopuszczalne dzienne pobranie (ADI) dla aspartamu wynosi 0–40 mg/kg masy ciała. Dopuszczalna zawartość aspartamu w napojach bezalkoholowych wynosi 600 mg/l (7).

Badania przeprowadzono w celu oceny jakościowej napojów gazowanych bezalkoholowych w zakresie zawartości aspartamu i jego metabolitów (L-fenyloalaniny i diketopiperazyny) oraz oszacowania ewentualnego ryzyka negatywnego oddziaływania na zdrowie konsumenta spożywającego napoje słodzone słodzikami.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły 4 typy napojów: cola, oranżada, napoje o smaku owocowym oraz energetyzujące, słodzone wyłącznie aspartamem i acesulfamem K. Napoje zakupiono w handlu detalicznym w Gdyni. Żaden z badanych napojów nie przekraczał terminu przydatności do spożycia.

Zawartość α -aspartamu, fenyloalaniny i diketopiperazyny oznaczono z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej, wykorzystując zestaw chromatograficzny ProStar firmy Varian, wyposażony w: dozownik Rheodyne, z pętlą dozującą o pojemności 20 μ l, detektor UV/VIS(DAD) (ProStar 330 series Photodiode Array Detector). Długość fali obserwacji wynosiła 210 nm. Zastosowano kolumnę Omnispher 5 C18 (250 \times 4,6 mm) firmy Varian Chrompack, zaopatrzoną w kolumnę ochronną. Oznaczenia wykonywano w temperaturze otoczenia. Fazę ruchomą stanowił układ izokratyczny: roztwór buforu fosforanowego ($c\text{KH}_2\text{PO}_4 = 0,0125 \text{ mol/l}$) doprowadzony do pH = 3,5 kwasem fosforowym (V) + acetonitryl (88:12 v/v) (szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1,0 ml/min.). Woda stosowana do oznaczeń pochodziła z aparatu Milli-Q gradient A10, Millipore.



Ryc. 1. Chromatogramy wybranych napojów gazowanych.

Fig. 1. Chromatograms of selected diet carbonated beverages.

Wszystkie próbki do oznaczeń zostały odgazowane oraz przefiltrowane, przez sącdek membranowy o średnicy porów 0,45 μm , przed analizą chromatograficzną. Każdy badany napój analizowano w dwóch powtórzeniach dozowania na kolumnę chromatograficzną.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Spośród oznaczonych napojów najwyższą średnią zawartość aspartamu (240 mg/l) oznaczono dla dietetycznej coli. Grupa ta charakteryzowała się również najszerszym zakresem oznaczonych stężeń aspartamu. Najniższe zawartości aspartamu (średnio 93 mg/l) i najmniejszy zakres stężeń oznaczono w grupie dietetycznych napojów energetyzujących (tab. I). Jednocześnie grupa napojów energetyzujących charakteryzowała się najwyższym średnim poziomem oznaczanych metabolitów, tj. diketopiperazyny 29,1 mg/l, L-fenylalaniny 1,6 (2,8) mg/l. Stanowi to wartość niemal 10 razy wyższą niż zawartość diketopiperazyny oznaczonej w oranżadach. Napoje energetyzujące wykazują znacznie bogatszy skład jakościowy niż pozostałe badane napoje, co prawdopodobnie wpływa na obniżoną stabilność aspartamu (tab. II i III). W handlu detalicznym istnieje mało zróżnicowana, uboga oferta napojów energetyzujących słodzonych aspartamem, wynikająca prawdopodobnie ze świadomości producentów napojów odnośnie niskiej stabilności aspartamu w wyniku interakcji między składnikami aktywnymi napojów energetyzujących.

Tabela I. Zawartość α -aspartamu w napojach gazowanychTable I. The content of α -aspartame in carbonated beverages

Napój	ilość próbek	Aspartam – zakres oznaczonych stężeń (mg/l)	Aspartam – średnia zawartość (mg/l)
dietetyczna cola	24	35–523	240
dietetyczny napój energetyzujący	14	57–131	93
dietetyczna oranżada	24	96–232	153
dietetyczny napój owocowy	72	80–343	146

Tabela II. Zawartość diketopiperazyny w napojach gazowanych

Table II. The content of diketopiperazine in carbonated beverages

Napój	Ilość próbek	Diketopiperazyna – zakres oznaczonych stężeń (mg/l)	Diketopiperazyna – średnia zawartość (mg/l)
dietetyczna cola	24/*24	0,6–45,2	17,5
dietetyczny napój energetyzujący	14/*14	8,9–47,1	29,1
dietetyczna oranżada	24/*24	2–4	3
dietetyczny napój owocowy	72 (100%) *60 (83,3%)	0–26,6 0,5–26,6	6,4 7,7

* z przekroczoną granicą oznaczalności diketopiperazyny

Tabela III. Zawartość L-fenylalaniny w napojach gazowanych

Table III. The content of L-phenylalanine in carbonated beverages

Napój	Ilość próbek	L-phenylalanine – ranges (mg/l)	L-phenylalanine – mean level (mg/l)
dietetyczna cola	24 (100%) *10(41,6%)	0–1,9 0,1–1,9	0,4 1,1
dietetyczny napój energetyzujący	14 (100%) *8(57,1%)	0–7,7 0,8–7,7	1,6 2,8
dietetyczna oranżada	24 (100%)	ND	ND
dietetyczny napój owocowy	72 (100%) 16 (22,2%)	0–9,2 0,3–9,2	0,6 2,5

ND – nie wykryto obecności (poniżej granicy wykrywalności)

* z przekroczoną granicą oznaczalności

WNIOSKI

1. Wszystkie badane napoje były dobrej jakości w zakresie zawartości aspartamu, ponieważ oznaczone ilości spełniały wymagania polskich unormowań prawnych.

2. Najwyższe poziomy metabolitów aspartamu oznaczono w dietetycznych napojach energetyzujących, stanowią one możliwość najwyższego pobrania fenilo-

alaniny i diketopiperazyny, jednak ze względu na to, że jest to grupa napojów spożywanych w ograniczonych (niezbyt dużych ilościach), nie stanowią znaczącego zagrożenia bezpieczeństwa zdrowotnego dla konsumenta.

3. Dietetyczne oranżady wykazały najniższe średnie zawartości diketopiperazyny. Nie wykryto w tej grupie fenylalaniny. Spośród badanych napojów – dietetyczne oranżady charakteryzowały się najwyższym bezpieczeństwem zdrowotnym w aspekcie pobrania oznaczanych metabolitów aspartamu.

A. Rój, E. Stasiuk

THE STUDY ON THE QUALITY CONTROL ON THE CONTENTS OF ASPARTAME
AND METABOLITES IN CARBONATED DRINKS SAMPLES BY HPLC

Summary

In the samples of various beverages the levels of: α -aspartame, diketopiperazine and L-phenylalanine by the HPLC technique with UV-VIS (DAD) have been examined. The main materials were: dietary cola, dietary orangeade, dietary soft drinks and dietary energizing drinks with sweeteners aspartame and ace-sulfame K. The measurements have indicated the difference of the contents of aspartame and metabolites with regardance to groups of dietary beverages. Dietary orangeade have been characterized by lower average level of diketopiperazine than all analyzed drinks. The higher level of aspartame metabolites and lower level of aspartame have been obtained in energizing drinks.

The levels of α -aspartame determined by this method were in good agreement with legislative control as regards their permitted usage (under 600 mg/L).

PIŚMIENNICTWO

1. *Çubuk Deminralay E., Özkan G.*: Optimization Strategy for Isocratic Separation of α -Aspartame and Its Breakdown Products by Reversed Phase Liquid Chromatography. *Chromatographia*, 2004, 60, 579-582. – 2. *Gibbs B. F., Alli I., Mulligan C. N.*: Simple and rapid high-performance liquid chromatographic method for determination of aspartame and its metabolites in foods. *Journal of Chromatography A*, 1996, 725, 372-377. – 3. *Kim S. K., Jung M. Y., Kim S. Y.*: Photodecomposition of aspartame in aqueous solutions. *Food Chemistry*, 1997, 59, 273-278. – 4. *Conceição M., Fernandes V. Jr., Souza A., Nascimento T., Aragão C., Macedo R.*: Study of thermal degradation of aspartame and its products of conversion in sweetener using isothermal thermogravimetry and HPLC. *Thermochemica Acta*, 2005, 433, 163-169. – 5. *Oyama Y., Sakai H., Arata T., Okano Y., Akaike N., Sakai K., Noda K.*: Cytotoxic effects of methanol, formaldehyde, and formate on dissociated rat thymocytes: A possibility of aspartame toxicity. *Cell Biology and Toxicology*, 2002, 18, 43-50. – 6. *Butchko H., Stargel W., Comer C.*: Aspartame: Review of Safety. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2002, 35, S1-S93. – 7. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu, Dz. U. z 2004 r. nr 94, poz.933.

Adres: 81-225 Gdynia, ul. Morska 81-87.