

Stabilita a stanovení sladidla USAL v pivě a víně

663.41 663.2

Ing. MARTIN PRUDEL, CSc., Ing. EVA DAVIDKOVÁ, CSc., Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Praha

Ing. VLADIMÍR PEŘINA, Západočeské pivovary, Karlovy Vary

Ing. KAREL PRŮŠA, Moravské vinařské závody, Mikulov

Prof. Ing. JIŘÍ DAVÍDEK, DrSc., člen korespondent ČSAV, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Klíčová slova: *sladidlo, Usal, pivo, víno, analyzátor, aminokyseliny*

Úvod

Obohacení trhu o nové druhy alkoholických nápojů s nižším obsahem sacharosy nebo bez ní byly hlavní důvody, které nás vedly k ověření stability dipeptidického sladidla Usal (Aspartame hydrochloride) v pivě a víně. Stabilita Usalu ve vodných roztocích je závislá především na pH a teplotě [1, 2]. Přídavek sacharosy a ethanolu do

vodných roztoků příznivě ovlivňuje jeho stabilitu [2]. Naproti tomu negativní vliv má mikrobiologické znečištění [3].

Ke stanovení Usalu v různých poživatinách používáme zjednodušeného analyzátoru aminokyselin a námi modifikovanou metodu [4]. Protože přidávané množství Usalu do alkoholických nápojů je menší než do nápojů nealkoholických [5], metodu jsme modifikovali a využili i ke

stanovení nižších koncentrací Usalu, než dovozovala dosud námi používaná metoda.

Materiál a pracovní postupy

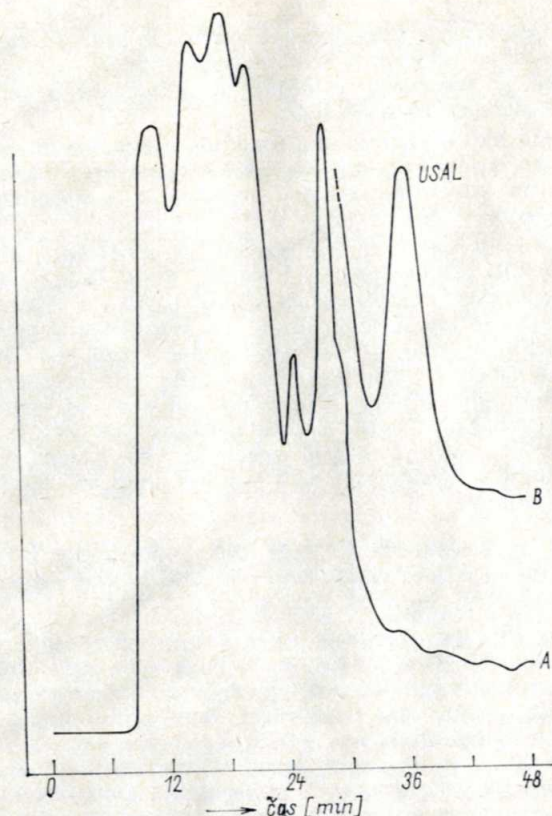
Stanovení Usalu (L-aspartyl-L-fenylalanin methylester hydrochlorid, Výzkumný ústav pro farmaci a biochemii, Praha) bylo prováděno na funkčně zjednodušeném analyzátoru aminokyselin [4]. Na rozdíl od původní metody byla použita kolona 250 X 7 mm plněná silně kyselým katexem OSTION LGKS 0803 (Spolek pro chemickou a hutní výrobu, k. p., Ústí nad Labem) v citrátovém cyklu, temperovaná na 74 °C. Průtok elučního citrátového pufru o pH 4,55 byl 70 ml · h⁻¹, průtok ninhydrinového činidla 35 ml · h⁻¹, detekce při 570 nm. Nanášený objem vzorku byl 3 ml.

K ověření metody stanovení a k sledování stability Usalu byla použita běžně vyráběná světlá a tmavá 11 % piva KAREL a LORD (Západočeské pivovary, závod Karlovy Vary), do kterých byl přidán Usal (50 mg · l⁻¹). Přídavek Usalu do vzorků bílého vína (Neuburské a Vlašský ryzlink, sklizeň 1982, Moravské vinařské závody, Mikulov) byl 25 a 250 mg · l⁻¹. Pivo bylo skladováno při teplotách 5 ± 2 °C a 18 ± 1 °C, víno při teplotě 20 ± 2 °C.

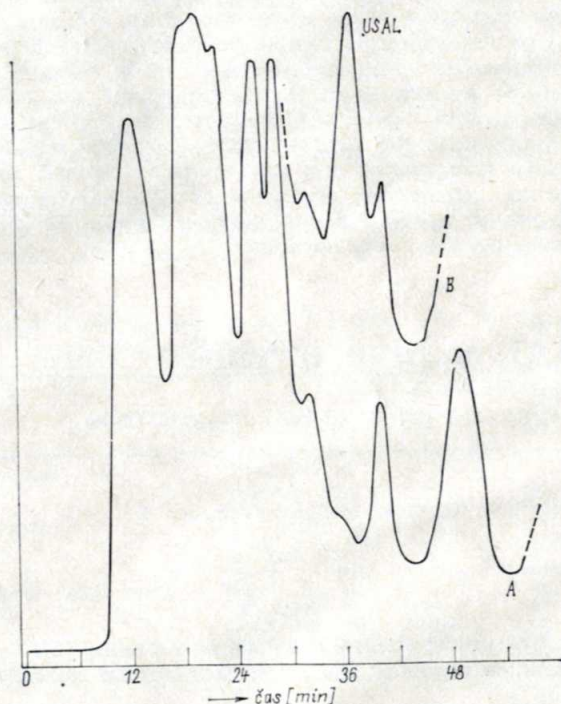
Před analýzou byl z piva odstraněn oxid uhličitý a pH upraveno přidávkem kyseliny citrónové (monohydrát, 1 g do 50 ml piva) na hodnotu 2,5. Takto připravený vzorek piva byl přímo nanášen na kolonu. Vzorky vína před analýzou nebyly upravovány.

Výsledky a diskuse

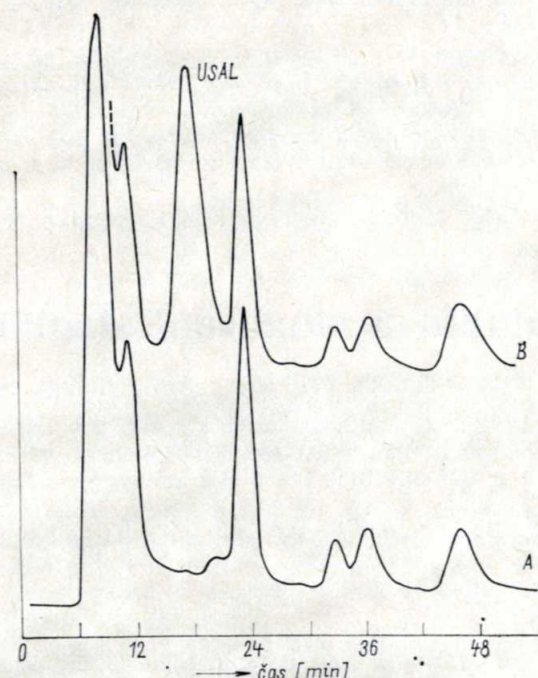
Stanovení nižších koncentrací Usalu bez předchozího zkoncentrování vzorku bylo dosaženo pouze zvětšením jeho nanášeného objemu. Nanášený objem byl 15krát větší než v původní metodě [4]. Z tohoto důvodu bylo nutno použít delší kolony, aby byla zvýšena dělicí kapacita. Se



Obr. 2. Stanovení Usalu ve víně: kolona 250 X 7 mm, 74 °C, pH 4,55, nástřik 3 ml
A — víno bez Usalu
B — víno s Usalem (50 mg · l⁻¹)



Obr. 1. Stanovení Usalu v pivě: kolona 250 X 7 mm, 74 °C, pH 4,55, nástřik 3 ml
A — pivo bez Usalu
B — pivo s Usalem (50 mg · l⁻¹)



Obr. 3. Stanovení Usalu v pivě: kolona 70 X 6 mm, 52 °C, pH 4,15, nástřik 0,2 ml
A — pivo bez Usalu
B — pivo s Usalem (500 mg · l⁻¹)

změnou délky kolony bylo rovněž třeba upravit pH elučního pufru (zvýšení ze 4,15 na 4,55) a teplotu kolony (z 52 na 74 °C). Za těchto podmínek bylo dosaženo optimálního oddělení přítomných ninhydrinpozitivních látek od Usalu (obr. 1 a 2). Chromatogramy všech zkoušených druhů pív a vín byly obdobné. Přestože bylo použito relativně velkého objemu nanášeného vzorku, nedocházelo k chvostování píku a pík Usalu byl ostrý jako u původní metody používané k stanovení jeho vyšších koncentrací (obr. 3 a 4) [4].

Minimální stanovitelné množství Usalu popsanou metodou je 20 mg.l⁻¹, což je pro daný účel dostačující. Celkový čas analýzy je 45 min. Po ukončení analýzy se kolona během 20 min promyje 0,2 N NaOH a opět stabilizuje citrátovým pufrem. Celý cyklus od jednoho nástřiku vzorku k druhému trvá zhruba 70 min.

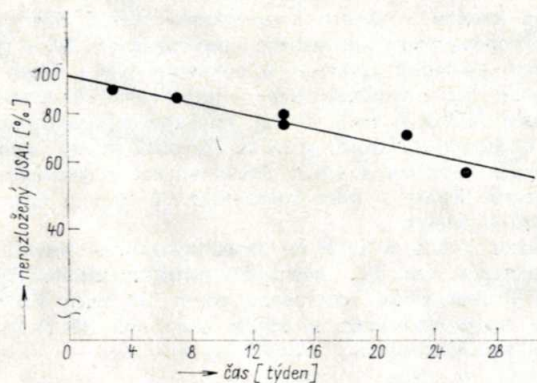
Koncentrace Usalu byla vypočtena metodou přímého srovnání. Jako standardu bylo používáno vodných roztoků Usalu. Při čtyřech paralelních stanoveních Usalu v pívě při koncentraci Usalu 59,8 mg.l⁻¹ byl variační koeficient (počítáno z rozpětí) $v = 3,0 \%$, směrodatná odchylka průměru $s_x = 0,044$ (tj. 0,73 %) a průměr zpětné výtěžnosti 101,5 %. Při stanovení ve víně bylo dosaženo výsledků ještě lepších ($v = 0,6 \%$, $s_x = 0,3 \%$, průměr zpětné výtěžnosti 100,6 %).

Stabilita Usalu v pívě (pH 4,2) odpovídá stabilitě, která byla zjištěna v modelových pokusech [2]. Při skladovací teplotě 5 °C nebyly pozorovány úbytky Usalu ani po 50 dnech skladování. Poločas rozkladu Usalu v pívě při teplotě 18 °C byl 32,5 týdnů. Vzhledem ke krátké záruční době běžných pív jsou úbytky Usalu v pívě zanedbatelné (tab. 1). Průměrný úbytek Usalu během laboratorní pastérace piva, tj. 20 min záhřev z 15 °C na 63 °C, 20 min výdrž při 63 °C a 20 min chlazení z 63 °C na 10 °C, byl 5,5 %.

Z obr. 5 je patrné, že úbytky Usalu ve víně jsou během záruční doby daleko větší. Poločas rozkladu ve sledovaných vzorcích bílého vína při teplotě 20 ± 2 °C byl 35 týdnů (pH 3,4), což je opět v souladu s modelovými pokusy [2].

Tabulka 1. Úbytek Usalu v tmavém pívě při teplotě skladování 18 °C vypočtený na základě naměřených hodnot

Čas (dny)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Úbytek Usalu (%)	1,5	3,0	4,5	5,9	7,3	8,7	10,1	11,5	12,8	14,1



Obr. 5. Průběh rozkladu Usalu v bílém víně při teplotě 20 ± 2 °C

Závěr

Ze získaných výsledků vyplývá, že popsaná metoda je vhodná k stanovení nízkých koncentrací Usalu v pívě a víně. Výhodou je, že není nutné předchozí zkoncentrování vzorku, metoda je nenáročná a relativně rychlá.

Usal lze doporučit k přislazování některých druhů pív, zvláště hluboko prokvašených, vhodných pro diabetiky.* Použití Usalu k přislazování vína, vzhledem k delší záruční době vína a rychlosti rozkladu Usalu, je problematické.

* Poznámka redakce: ČSN 56 6635 nepřipouští přislazování světých pív syntetickými sladidly.

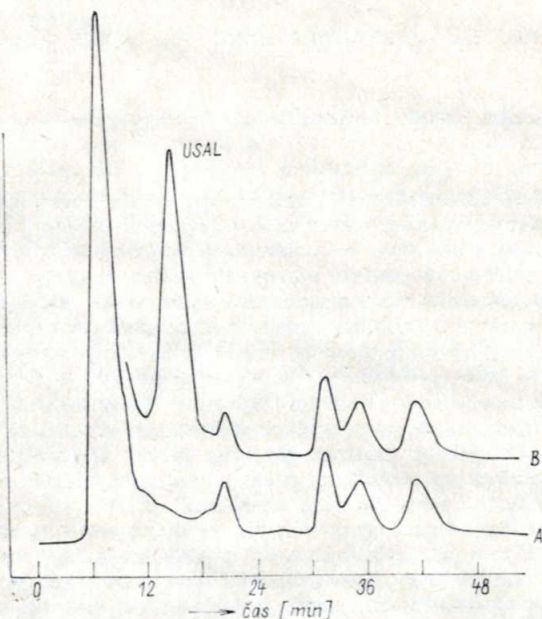
Literatura

- [1] SCOTT, D.: Proc. IV. Intern. Congr. Food. Sci. Technol., Madrid, 1974, s. 468
- [2] PRUDEL, M., DAVÍDKOVÁ, E.: Die Nahrung **25**, 1981, s. 193
- [3] ŠVORCOVÁ, L.: Kvas. prům. **24**, 1978, s. 180
- [4] VESELÝ, Z., DAVÍDKOVÁ, E., PRUDEL, M.: Die Nahrung **24**, 1980, s. 525
- [5] DAVÍDKOVÁ, E., HEBELKA, M., PRUDEL, M., ZBORIL, M.: Kvas. prům., **29**, 1983, č. 2, s. 36

Pruzel, M. - Davidková, E. - Peřina, V. - Průša, K. - Davídek, J.: Stabilita a stanovení sladidla Usal v pívě a víně. Kvas. prům. 31, 1985, č. 6, s. 129–132.

Stanovení nižších koncentrací sladidla Usal (Aspartame hydrochloride; L-aspartyl-L-fenylalanin methylester hydrochlorid) bez předchozího zkoncentrování v pívě a víně modifikovanou metodou, používanou k stanovení Usalu v různých poživatinách na silně kyselém katexu v citrátovém cyklu pomocí zjednodušeného analyzátoru aminokyselin, bylo dosaženo větším nanášeným objemem vzorku (místo původních 0,2 ml byly nanášeny 3 ml), delší kolonou (250 × 7 mm), vyšším pH elučního pufru (pH 4,55) a vyšší pracovní teplotou kolony (74 °C). Minimální stanovitelné množství Usalu v pívě je 20 mg.l⁻¹. Čas analýzy 45 min.

Úbytky Usalu v 11% nepasterovaném pívě nebyly pozorovány při 5 °C ani po 50 dnech skladování. Při 18 °C byl úbytek Usalu po 20 dnech 5,9 %. Poločas rozkladu v bílém víně při 20 ± 2 °C byl 35 týdnů.



Obr. 4. Stanovení Usalu ve víně: kolona 70 × 6 mm, 52 °C, pH 4,15, nástřik 0,2 ml
A — vino bez Usalu
B — vino s Usalem (500 mg.l⁻¹)

Прудел, М., Давидкова, Е., Пержина, В., Пруша, К., Давидек, И.: Стабильность и определение синтетического сахаристого препарата Усал в пиве и вине. Квас. прум. 31, 1985, № 6, стр. 129—132.

Определение более низких концентраций синтетического сахаристого вещества Усал (Аспартам гидрохлорид, L-аспартил-L-фенилаланин метилэфир гидрохлорид) без предварительного концентрирования в пиве и вине модифицированным методом, применяющимся для определения Усала в разных пищевых продуктах на сильно кислом катионите в цитратном цикле при помощи упрощенного анализатора аминокислот, было достигнуто большим наносимым объемом пробы (вместо исходных 0,2 мл наносились 3 мл), большей длиной колонки (250 × 7 мм), более высоким pH элюционного буфера (pH 4,55) и более высокой рабочей температурой колонки (74 °C). Минимальное определяемое количество Усала в пиве составляет 20 мг.л⁻¹. Время анализа 45 минут.

Убытки Усала в 11 %-ом непастерованном пиве не наблюдались при 5 °C после 50 дней хранения. При 18 °C убыток Усала составлял после 20 дней 5,9 %. Время полуразложения в белом вине при 20 ± 2 °C составляло 35 недель.

Prudel, M. - Davidková, E. - Peřina, V. - Průša, K., - Daviděk, J.: Stability and determination of sweetener Usal in beer and wine. Kvas. prům. 31, 1985, No. 6, pp. 129—132.

The method for the determination of Usal (Aspartame hydrochloride, L-aspartyl-L-phenylalanine methylester hydrochloride) was modified for the analysis of low sweetener concentrations in beer and wine. The original procedure for Usal determination in foods based on Usal separation on a strong cation exchanger in citrate buffer

by means of a simplified amino acid analyser was applied without any preliminary sample concentration. The modification comprises larger injections applied (3 ml instead the former 0.2 ml), a longer column (250 × 7 mm), higher pH of the elution buffer (pH 4.55) and higher working temperature of the column (74 °C). The sensitivity limit of Usal determination in beer is 20 mg.l⁻¹. The analysis takes 45 min. No Usal loss were observed in beer (11 % unpasteurized) after 50 days of storage at 5 °C and 5,9 % Usal loss occurred after 20 days of storage at 18 °C. The halftime of Usal decomposition in white wine was 35 weeks at 20 ± 2 °C.

Prudel, M. - Davidková, E. - Peřina, V. - Průša, K. - Daviděk, J.: Stabilität und Bestimmung des Süßmittels USAL in Bier und Wein. Kvas. prům. 31, 1985, Nr. 6, S. 129—132.

Die Bestimmung niedrigerer Konzentrationen des Süßmittels USAL (Aspartame Hydrochloride; L-Aspartyl-L-Fenylalanin Methylester Hydrochlorid) ohne vorherige Konzentrierung in Bier und Wein durch modifizierte Methode, die zur USAL-Bestimmung in Lebensmitteln auf stark sauerem Katex in Citratzyklus mittels des vereinfachten Aminosäuren-Analysators angewandt wird, wurde erzielt durch Auftragung größerer Probenolumina (3 ml statt ursprüngl. 0,2 ml), längere Kolonne (250 × 7 mm), höheres pH des Evolutionspuffers (pH 4,55) und höhere Arbeitstemperatur der Kolonne (74 °C). Die minimale bestimmbare USAL-Menge im Bier beträgt 20 mg.l⁻¹. Die Analyse dauert 45 Minuten.

In 11% nichtpasteurisiertem Bier wurde bei 5 °C auch nach 50 Tagen Lagerung keine USAL-Abnahme beobachtet. Bei 18 °C betrug die USAL-Abnahme nach 20 Tagen 5,9 %. Die Zersetzungshalbwertszeit in Weißwein bei 20 ± 2 °C war 35 Wochen.