

# STANOVENÍ UMĚLÝCH SLADIDEL V PIVU

Ing. DAGMAR ČADKOVÁ, Ing. JIŘÍ ČULÍK, CSc., RNDr. MARIE JURKOVÁ, CSc.,  
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

**Klíčová slova:** pivo, nealkoholické nápoje, sacharin, aspartam, acesulfam K, extrakce na pevné fázi, HPLC

## 1. ÚVOD

S nárůstem počtu obézních lidí v průmyslově vyspělých zemích se prosazují nové trendy, vedoucí ke snížení energetické hodnoty nápojů, vhodných i pro diabetiky. Dlouhou dobu dominovaly mezi umělými sladidly sacharin a cyklamáty. Používání dalších umělých sladidel bylo komplikované, hlavně proto, že neexistoval vztah mezi chemickou strukturou sladidla a jeho sladivostí. Nebyl ověřen ani vliv nových typů sladidel na zdraví člověka. Nová sladidla musí splňovat i další kritéria, jako např. odpovídající rozpustnost, stabilitu v širokém rozmezí pH a teplot. Na našem trhu se nejčastěji objevují nápoje slazené sacharinem s pětsetkrát vyšší sladivostí než sacharosa a upouští se od používání cyklamátů, jejichž zdravotní nezávadnost není zcela prokázána. Nově se vyskytuje nestabilní ester dipeptidu s obchodním názvem aspartam a sladidlo zahrnuté do skupiny oxathiazinových dioxidů s názvem acesulfam K. Lze očekávat, podobně jako v zahraničí, výskyt uvedených umělých sladidel hlavně v nealkoholických směsích piva se sirupy a v tmavých pivech.

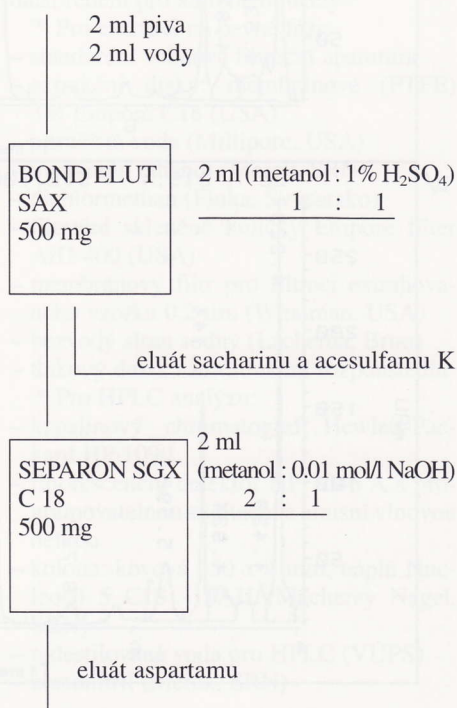
## 2. VÝBĚR IZOLAČNÍHO POSTUPU A ANALYTICKÉ METODY

K analýze umělých sladidel v nealkoholických nápojích a džusech je nutná pouze filtrace a odplynění vzorku. U komplexnějších matic, mezi které patří i pivo a jeho směs, byla používána extrakce kapalina-kapalina do extrakčních směsí obsahujících uhličitánové nebo hydrogenuhlíčitánové pufrů a chloroform [1]. Novější postupy pro izolaci sladidel z kapalných matic pracují na principu extrakce na pevné fázi (SPE) s navázaným kvarterním amonným iontem na neselektivním C 18 sorbentu. Uvedeným postupem nelze izolovat aspartam [2]. Pro izolaci sladidel sacharinu, aspartamu a acesulfamu K v jednom kroku bylo nutné, vzhledem k odlišným chemickým vlastnostem uvedených sladidel, volit kombinaci sériově zapojených sorbentů.

Pro souběžné stanovení umělých sladidel byla jednoznačně zvolena metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí. K rozdělení analytů na chromatografické koloně je využívána iontově párová chromatografie [3]. Analyty tvoří iontové páry s tetrabutylamonium bromidem nebo hexadecylmethylamonium bromidem. V případě výběru kvalitní kolony s označením DB v kombinaci s gradientovou elucí lze z mobilní fáze vynechat iontově párové činidlo.

## 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Schéma dvoufázové SPE sacharinu, aspartamu a acesulfamu K z piva na paralelně zapojených sorbentech.



V uvedeném schématu je uvedena jednoduchá a rychlá souběžná izolace tří sladidel na sériově zapojených sorbentech s oddělenou extrakcí. Průměrná výtěžnost extrakce je u sacharinu 95,6 %, u aspartamu 84,3 % a u acesulfamu K 74,0 %. Eluáty z obou sorbentů jsou analyzovány na kapalinovém chromatografu za dále uvedených podmínek.

### Podmínky HPLC analýzy

Analýza byla provedena na kapalinovém chromatografu Hewlett Packard HP 1090 s UV spektrofotometrickým detektorem s proměnnou vlnovou délkou, s předkolonou LC 18 DB Hewlett Packard a kolonou Hypersil ODS, 200 x 4,6 mm, 5 µm, při teplotě 32 °C.

Složení mobilní fáze: fosfátový pufr ( $c = 0,03 \text{ mol/l K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), pH 5,5 a acetonitril, průtok 0,8 ml/min.

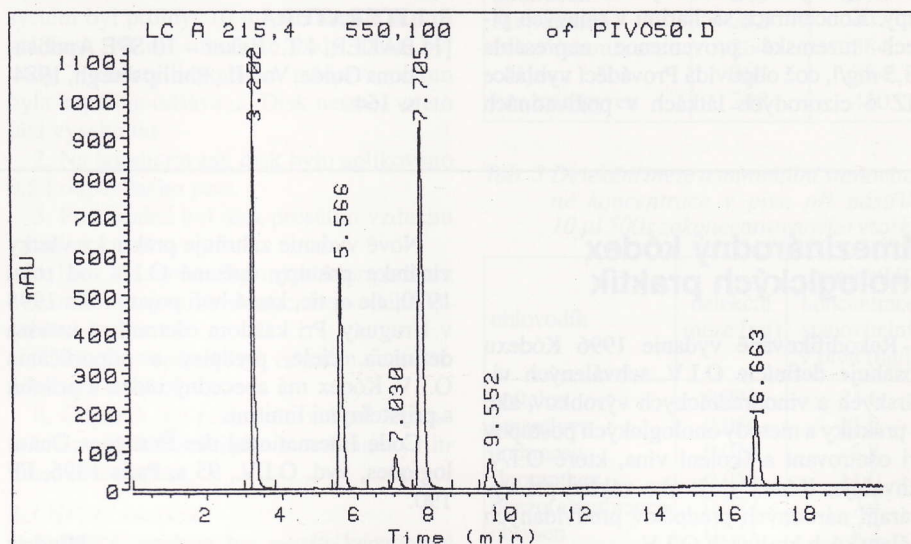
Je použita gradientová eluce s časovým profilem uvedeným v tab. 1.

Analýza byla provedena při vlnových délkách 215 a 230 nm, z důvodu vyšší citlivosti stanovení acesulfamu K při 230 nm.

Tab. 1 Časový profil gradientové eluce

| Čas (min) | % pufru | % acetonitrilu |
|-----------|---------|----------------|
| 1         | 94,0    | 6,0            |
| 8         | 89,0    | 11,0           |
| 10        | 86,0    | 14,0           |
| 12        | 84,0    | 16,0           |

Obr. 1 Chromatogram standardní směsi aditiv ve vodě obsahující 200,0 mg/l askorbové kyseliny, 30,0 mg/l benzoové kyseliny, 30,0 mg/l sorbové kyseliny, 111,0 mg/l sacharinu, 111,0 mg/l aspartamu a 111,0 mg/l acesulfamu K.





Detekční limit byl určen jako hodnota koncentrace odpovídající při nástřiku 20 µl trojnásobku šumu a mez stanovitelnosti jeho desetinásobku. Hodnoty jsou uvedeny v tab. 2.

Tab. 2 Hodnoty detekčních limitů a mezí stanovitelnosti jednotlivých sladidel

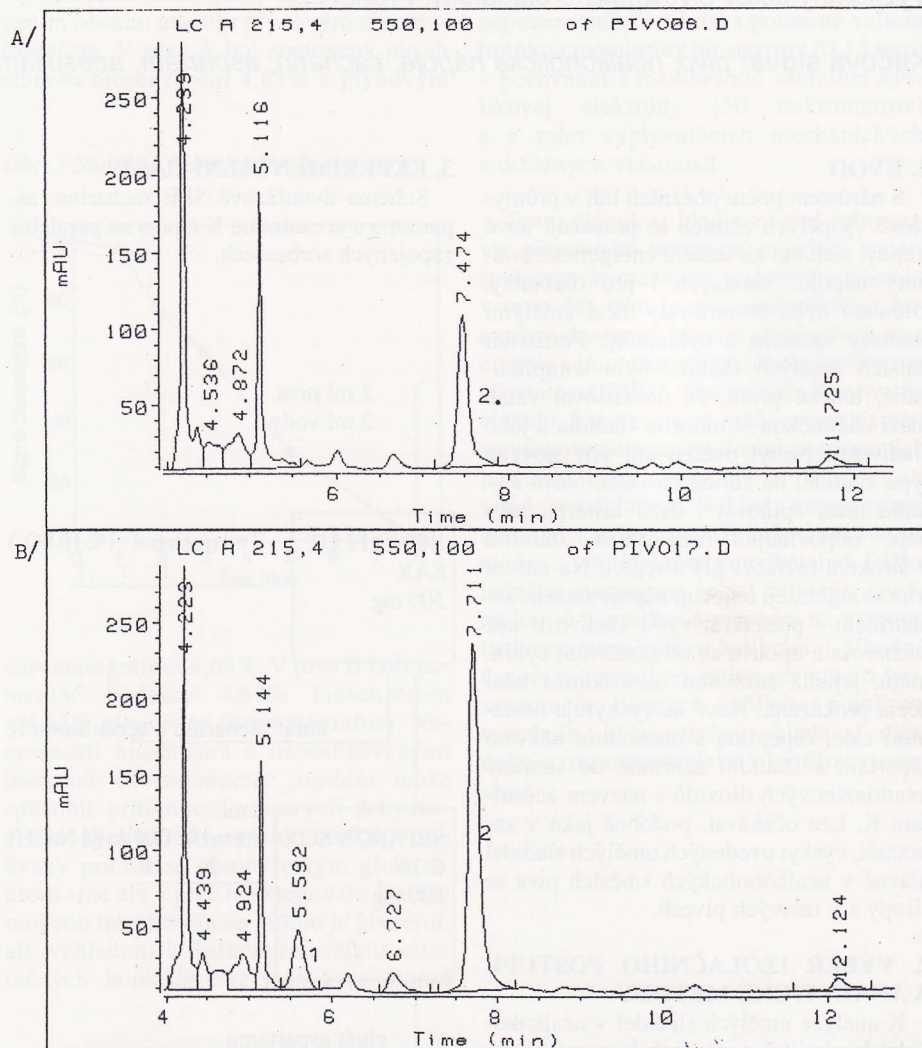
| Sladidlo   | Vln. délka (nm) | Detekční limit (mg/l) | Mez stanovitelnosti (mg/l) |
|------------|-----------------|-----------------------|----------------------------|
| sacharin   | 215             | 0,8                   | 2,6                        |
| aspartam   | 215             | 1,2                   | 4,0                        |
| acesulf. K | 215             | 1,3                   | 4,5                        |
| acesulf. K | 230             | 1,0                   | 3,5                        |

Tab. 3 Retenční časy jednotlivých aditiv

| Analyt             | Retenční čas (min) |
|--------------------|--------------------|
| Askorbová kyselina | 3,20               |
| Acesulfam K        | 5,56               |
| Benzoová kyselina  | 7,03               |
| Sacharin           | 7,71               |
| Sorbová kyselina   | 9,55               |
| Aspartam           | 16,66              |

Při uvedených chromatografických podmínkách dochází k dokonalému rozdělení sacharinu, aspartamu a acesulfamu K od konzervačních látek běžně užívaných v nealkoholických nápojích. Retenční časy jednotlivých aditiv jsou uvedeny v tabulce 3 a chromatogram standardní směsi aditiv ve vodě je znázorněn na obr. 1. Extrakt tmavého piva ze sorbentu Bond Elut SAX a extrakt z tmavého piva se standardním přídatkem sacharinu a acesulfamu K je porovnán v obr. 2.

Obr. 2 Srovnání chromatografických záznamů extraktu tmavého piva ze sorbentu Bond Elut SAX s obsahem 12,4 mg/l sacharinu [2] a extraktu tmavého piva se standardním přídatkem 16,5 mg/l sacharinu [2] a 10,0 mg/l acesulfamu K [1].



#### 4. DISKUSE

Vypracovaná metoda byla ověřena na tmavých pivech české a slovenské výroby a na belgických alkoholických směsích se sirupy. Koncentrace sacharinu v tmavých pivech tuzemské proveniencie nepřesáhla 13,5 mg/l, což odpovídá Prováděcí vyhlášce MZ o cizorodých látkách v potravinách

50/78. V belgických směsích nebyla nalezena umělá sladidla ani konzervační látky, jako je např. benzoová nebo sorbová kyselina.

#### 5. LITERATURA

[1] BAKER, J.T.: Baker – 10 SPE Applications Guide, Vol. II., Phillipsburgh, 1984, s. 164.

[2] HENNING, W.: Deutsch. Lebensm. Rundsch. 79, 1983, s. 16.

[3] BORCHER, T.C., K. RÖGER E.: Msch. Brauwissensch. 11, 1989, s. 438.

Lektorovala: RNDr. Věra Pacáková, CSc.  
Do redakce došlo: 3. 5.1996

## Mmezinárodní kódex enologických praktik

Rekodifikované vydání 1996 Kódexu obsahuje definice O.I.V. schválených vinárských a vinohradnických výrobků, ako aj praktiky a metódy enologických postupov pri ošetrovaní a školení vína, ktoré O.I.V. schvaľuje. Kódex slúži ako základ pri vytváraní národných predpisov predvídaných v členských krajinách O.I.V.

Nové vydanie zahrňuje prakticky všetky vinárske postupy opísané O.I.V. od roku 1970, ale aj tie, ktoré boli pojaté roku 1995 v Uruguay. Pri každom ošetrení sa uvádza definícia, cieľ, predpisy a odporúčania O.I.V. Kódex má abecedný index a prílohu s prijateľnými limitmi.

Code International des Pratiques Oenologiques, vyd. O.I.V., 95 s, Paris 1996, FF 190.

## Bierbel – nové pivo belgického typu

Bierbel je pivo vyráběné svrchním kvašením. Má pouze 2,8 % alkoholu, chuť je lehce karamelová. Je určeno pro ty, kteří nemají rádi hořkou chuť piva. Prodává se v balení 6krát 25 cl lahvi, nebo v 30 l soudku.

BIOS, 26, 1995, č. 3/4, s. 6