

## Визначення штучного підсолоджувача аспартам (харчова добавка E-951) методом прямої потенціометрії

О.В. Пашинова, В.І. Ткач

ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»,  
пр. Гагаріна, 8, Дніпропетровськ-5, 49005, [olga\\_pashinova@mail.ru](mailto:olga_pashinova@mail.ru)

Надійшла: 30 січня 2012 р / Прийнято до друку: 27 серпня 2012 р.

*Досліджена реакція взаємодії органічного катіону штучного підсолоджувача аспартам з гетерополіаніоном  $PMo_{12}O_{40}^{3-}$  методом амперметричного титрування. Малорозчинні асоціати, що утворилися, були використані як електродноактивні речовини в пластифікованих мембранах іонселективних електродів, обернених до органічного катіону аспартаму. Запропоновані методики прямого потенціометричного визначення підсолоджувача аспартам, що відрізняються чутливістю, селективністю, експресністю і точністю.*

**O.V. PASHINOVA, V.I. TKACH DETERMINATION OF ARTIFICIAL SWEETENER ASPARTAME (FOOD SPECIES E-951) BY METHOD OF DIRECT POTENTIOMETRY** – It is studied interaction of artificial sweetener of aspartame with heteropolyanion  $PMo_{12}O_{40}^{3-}$  by the method of: amperometric titration. Insoluble associates that formed were used as electrode-active matters in the improved membranes of ionselective electrodes. The electrodes have function of exchange by organic cation of synthetic sweetener aspartame. The proposed method of direct potentiometric determination of aspartame, possess a higher sensitivity, selectivity expressivity and accuracy

**Ключові слова:** амперметричне титрування, іонселективний електрод, гетерополіаніон, аспартам

**Keywords:** amperometric titration, ionselective electrode, heteropolyanion, aspartame

Аспартам – це синтетичний підсолоджувач нового покоління, який є солодшим у порівнянні з сахарозою у 180 разів. Використовується як заміник природного цукру для зниження калорійності продуктів масового харчування. За хімічною структурою аспартам - дипептид, який синтезований з двох амінокислот – аспарагінової та фенілаланіну. Придатний для використання у харчових продуктах, якщо технологічний процес виготовлення не потребує додаткової термічної обробки, наприклад морозиво, креми, желе. Це пов'язано з тим, що аспартам повністю втрачає солодкий смак, якщо його витримати впродовж 45 хвилин при температурі 150°C [1]. Хімічна стійкість розчину субстанції залежить від кислотності середовища. При рН=4.2-4.9, водний розчин підсолоджувача є найбільш стабільним.

Аспартам підсилює смак сахарози, цикламатів, сахарину, тому частіше використовується не окремо, а в суміші з цими речовинами. Відомо також, що його використовують у суміші з лимонною кислотою, що значно підвищує ступінь солодкості речовини [2].

Для даного заміника цукру характерні майже всі хімічні властивості, що й для  $\alpha$ -амінокислот. Як відомо, специфічною для пептидів є біуретова реакція. При цьому дипептиди, в тому числі й аспартам, утворюють комплекси синього кольору з максимумом поглинання при 610 нм.

Якісною реакцією на аспартам є реакція з концентрованою азотною кислотою (так звана ксантопротеїнова реакція) через наявність в

складі підсолоджувача амінокислоти – фенілаланін. В результаті реакції утворюється продукт яскраво-жовтого кольору [3].

Відомі наступні методи визначення аспартаму: високоефективна рідинна хроматографія [4], іонна хроматографія [5], визначення за допомогою оптичного біосенсора [6]. Більш доступними та простими є спектрофотометричні методи визначення пептидів [7-10], що базуються на реакції з нінгідрином. Однак ці методи мають суттєві недоліки [11-13]:

– нінгідрин є токсичним реагентом, що уражає дихальні шляхи;

– розчин нінгідрину є нестабільним при зберіганні (розкладається при дії світла та температури);

– комплексоутворення між аспартамом та нінгідрином проходить ступінчасто в невеликому інтервалі часу, а тому результати фотометричних методик є неточними, метод має похибку 10-12 %).

Існуючі методики відрізняються багато-стадійністю експерименту (включають пробопідготовку: відокремлення підсолоджувача від допоміжних компонентів, переведення основного компоненту у сполуку, що поглинає світло та ін.), токсичністю реагентів та складністю обладнання. Тому актуальною аналітичною задачею є розробка альтернативних методик визначення аспартаму у субстанції та промисловій продукції, що відрізняються експресністю та простотою.

Вивчення реакцій взаємодії гетерополіаніонів (ГПА) з органічними катіонами (ОК) нітрогеновмісних сполук дало змогу використовувати дані реакції при амперометричному титруванні, а малорозчинні продукти даних реакцій з іонно-асоціативним характером зв'язку між ГПА і ОК – як електродноактивні речовини (ЕАР) для іонселективних електродів (ІСЕ), оборотних до даних органічних катіонів.

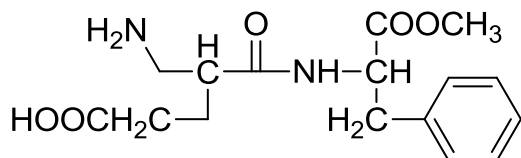
## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В даній роботі були використані наступні хімічні реактиви:

1. 12-молібдофосфатна гетерополікіслота (МФК)  $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40} \cdot 26 \text{H}_2\text{O}$ , марки «ч.д.а.»
2. 12-вольфрамофосфатна гетерополікіслота (ВФК)  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40} \cdot 29 \text{H}_2\text{O}$ , марки «ч.д.а.»
3. 12-молібдокремнієва гетерополікіслота (МКК)  $\text{H}_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , марки «ч.д.а.»

Розчини гетерополікіслот концентрацією  $10^{-2}$  моль/л готують наступним чином: розраховану наважку відповідної кислоти розчиняють в дистильованій воді в колбі на 100 мл. Отриманий розчин нагрівають на водяній бані до повного розчинення наважки.

4. Розчин аспартату (L-аспарагін-L-фенілаланіну метиловий ефір) концентрацією  $10^{-2}$  моль/л готують по наважці без додаткового очищення.



5. Для проведення амперометричного титрування використовували прилад АУ-4М, що складається з наступних вузлів: мікроамперметр М-95, блок живлення, система з двох електродів: індикаторний – торцевий графітовий електрод з діаметром робочої поверхні 5 мм (швидкість обертання 660 об/сек) та електрод порівняння – насичений каломельний напівелемент.

Амперометричне титрування ґрунтується на реакціях взаємодії між органічними катіонами визначуваних речовин і ГПА з утворенням малорозчинних сполук з асоціативним характером зв'язку та фіксації точки еквівалентності за струмом електровідновлення двох атомів молібдену. При виконанні титрування на систему накладають напругу, вибрану на основі вивчених вольтамперних кривих. Як індикаторний використовували торцевий графітовий електрод, що обертається, як електрод порівняння – каломельний напівелемент.

*Методика амперометричного визначення аспартату.* Наважку субстанції підсолоджувача в межах 0.0440–0.0550 г розчиняють у невеликій

кількості води, рН розчину доводять до 5.0 розчином  $\text{NaOH}_{\text{розв.}}$ . Після цього розчин переносять в мірну колбу на 25.0 мл та доводять до мітки водою; переносять в електрохімічну комірку з системою електродів (індикаторний – торцевий графітовий електрод; електрод порівняння – насичений каломельний), накладають напругу + 0.1 В і через 60 с фіксують величину “нульового” струму. Титрують  $1 \cdot 10^{-2}$  М водним розчином 12-молібдофосфатної гетерополікіслоти порціями по 0.2 мл. Фіксують величину сили дифузійного струму через 45–50 с після додавання титранту. Амперометричне титрування закінчують після різкого збільшення сили дифузійного струму. Об'єм титранту, який був використаний на титрування визначають графічно на кривій амперометричного титрування.

6. Для виготовлення мембран ІСЕ використовували наступні реактиви:

Полівінілхлорид (ПВХ), марки С-70 «х.ч.» – матриця мембрани, циклогексанон (ЦГ), марки «ч.д.а.» – розчинник матриці. Як мембранні розчинники-пластифікатори використовують наступні органічні розчинники: дибутилфталат (ДБФ) марки «х.ч.», діоктилфталат (ДОФ) марки «х.ч.», трирезилфосфат (ТКФ), марки «ч.»

Як електродноактивну речовину (ЕАР) використовували асоціат органічного катіону аспартату з гетерополіаніонами 12-молібдофосфатної  $(\text{Asp})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ , 12-вольфрамофосфатної  $(\text{Asp})_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2$  та 12-молібдокремнієвої гетерополікіслот  $(\text{Asp})_2\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ .

7. Пластифіковані полівінілхлоридні мембрани на основі різних мембранних розчинників-пластифікаторів (ДБФ, ДОФ, ТКФ) для ІСЕ синтезували за стандартною методикою [14]: 0.45 г ПВХ розчиняли в 4.5 мл ЦГ при слабкому нагріванні на водяній бані при постійному перемішуванні до повного розчинення. Окремо готували розчин наважки в межах 0.01–0.02 г ЕАР із 1.1 мл мембранного розчинника-пластифікатора. Після змішування отримані розчини у вигляді прозорої гомогенної суміші переносили до чашки Петрі діаметром ~ 50 мм. Після повного випаровування ЦГ з суміші під витяжною шафою (3-4 доби) отримували прозору, слабкожовтого або білого забарвлення еластичну плівку пластифікованої полівінілхлоридної мембрани.

8. Потенціометричні дослідження проводили на іономерах ЕВ-74, І-130 із використанням хлорид-срібного електроду та іонселективного електроду на аспартам.

Перед використанням ІСЕ вимочували в розчині органічного катіону підсолоджувача з концентрацією, яка відповідає середині діапазону вмісту речовини, що визначається.

Для реєстрації електродних характеристик використовували електрохімічну комірку:

Ag	AgCl,	Визначуваний розчин підсолоджувача	Мембрана	10 <sup>-4</sup> М розчин визначуваної речовини	KCl <sub>нас.</sub>	Ag
----	-------	------------------------------------	----------	---	---------------------	----

#### Методика іонометричного визначення

Точну наважку або об'єм зразка з вмістом аспартату на рівні 10–15 мг розчиняють в дистильованій воді та доводять рН розчину до 5.0. Отриманий розчин переносять у мірну колбу на 25,0 мл, доводять до мітки дистильованою водою і кількісно переносять в електрохімічну комірку з системою електродів: ІСЕ, оборотний до органічного катіону аспартату – індикаторний, хлорид-срібний – електрод порівняння. За допомогою іономеру вимірюють електрорушійну силу отриманого зразка і за градувальним графіком визначають кількісний вміст підсолоджувача у субстанції.

9. Оптичну густину чистих розчинів аспартату, гетерополикислот, а також розчинів іонних асоціатів з ГПА -  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  вимірювали на спектрофотометрі СФ–46. Спектри поглинання досліджуваних сполук реєстрували в діапазоні 200-330 нм в кварцових кюветах з товщиною шару 1 см. Як розчинник та розчин порівняння для розчину аспартату використовували дистильовану воду.

10. Для встановлення можливого складу асоціатів органічного катіону аспартату з ГПА проводили пряме насичення водного розчину молібдофосфатної кислоти (МФК) з концентрацією 1·10<sup>-4</sup> моль/л.

#### Визначення складу асоціату аспартату з ГПА методом УФ-спектроскопії.

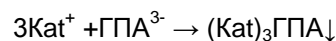
У 6 мірних колб об'ємом 25 мл вводили по 2 мл МФК і додавали у кожну колбу різну кількість водного розчину аспартату: 1; 2; 3; 4; 5; 6 мл; доводили об'єм кожної колби до риски водою і визначали оптичну густину отриманих розчинів при  $\lambda = 258$  нм,  $l = 1$  см. За результатами вимірювань будували криву насичення.

11. Для ідентифікації одержаних сполук ОК нітрогеновмісних речовин з ГПА  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  та дослідження характеру їх взаємодії був використаний метод ІЧ-спектроскопії і зареєстровані ІЧ-спектри на ІЧ-спектрометрі NICOLET (Impract-400) з Фур'є-перетворювачем в інтервалі 4000 - 400 см<sup>-1</sup>.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гетерополикислоти (ГПК) структури Кеггіна широко застосовуються в практиці медично-біологічних досліджень як аналітичні реагенти для визначення багатьох біологічно активних речовин, що містять основний атом Нітрогену [15-17]. Використання гетерополикислот структури Кеггіна в амперометричному титруванні базується на окисно-відновних властивостях ГПА, а також

здатності гетерополіаніонів осаджувати велику кількість неорганічних та органічних нітрогеновмісних катіонів з утворенням стійких малорозчинних речовин із асоціативним характером хімічного зв'язку:



Таким чином, утворення осаду в реакції взаємодії між ГПА структури Кеггіна та нітрогеновмісними органічними основами, та наявність при цьому ефективного аналітичного сигналу (різкої зміни граничного дифузійного струму при електрохімічному відновленні ГПА), дають змогу використовувати даний аналітичний реагент для аналізу нітрогеновмісних органічних речовин методом амперометричного титрування. Отримані в результаті реакції малорозчинні речовини можуть бути використані як ЕАР для виготовлення іон селективних електродів, оборотних до органічного катіону підсолоджувача.

Отримані сполуки, що утворились в результаті взаємодії гетерополіаніонів структури Кеггіна та органічного катіону підсолоджувача мають іонно-асоціативний характер зв'язку, що підтверджено методами УФ- та ІЧ-спектроскопічними дослідженнями. Крім того, вони відповідають вимогам до електродноактивних речовин (мала розчинність у воді та достатньо велика у органічних розчинниках) і тому можуть бути використані для розробки ІСЕ, що оборотні до катіону аспартату.

Відомо, що чутливість та селективність ІСЕ визначається іонним добутком (ІД) розчинності асоціатів, що використовуються як електродноактивні компоненти мембран. Тому було проведено визначення іонних добутків синтезованих асоціатів методом амперометричного титрування:

$$\begin{aligned} \text{ІД}[(\text{Asp})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2] &= [\text{Asp}^{+2}]^3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]^2 = 1.2 \cdot 10^{-27} \\ \text{ІД}[(\text{Asp})_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2] &= [\text{Asp}^{+2}]^3[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]^2 = 9.1 \cdot 10^{-30} \\ \text{ІД}[(\text{Asp})_2\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}] &= [\text{Asp}^{+2}]^2[\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}^{4-}] = 2.8 \cdot 10^{-19} \end{aligned}$$

Попередньо методами УФ-спектроскопії досліджена залежність властивостей аспартату від рН середовища. Встановлено, що в результаті в діапазоні значень рН=1–11 спектри розчинів аспартату зберігають два максимуми поглинання при  $\lambda=214$  та  $\lambda=258$  нм.

УФ-спектри водних розчинів аспартату (рис.1) в широкому інтервалі рН характеризуються наявністю інтенсивних смуг поглинання в діапазоні 200-340 нм. Смуга з максимумом поглинання при 214 нм належить до  $n \rightarrow \pi^*$  переходу, має досить велику інтенсивність і відповідає збудженню хромофорів, які входять до складу аспартату:  $-\text{CO}_2\text{R}$ . [18, 19]. В інтервалі 240-260 нм для водних розчинів аспартату спостерігається

смуга поглинання, яку можна віднести до  $n \rightarrow \pi^*$  переходу з  $\lambda_{\max}=258$  нм.

Як відомо з літературних даних, спектри поглинання гетерополікислот структури Кеггіна характеризуються наявністю інтенсивної смуги поглинання в інтервалі 207-220 нм, що належить електронному переносу з орбіталей, локалізованих на атомах Оксигену, на атом металу кінцевих зв'язків О=Ме (Ме – Мо) [91-93], і менш інтенсивних смуг переносу заряду по місткових зв'язках Ме-О-Ме (260 - 280 і 320 - 330 нм). УФ-спектри водних розчинів асоціатів

сполук  $(\text{Asp})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$  та  $(\text{Asp})_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2$  (рис. 2, 3) містять смуги поглинання, характерні для вихідних речовин (ГПА та аспартам), що свідчить про незмінність хромофорної системи в ході реакції та підтверджує асоціативний характер взаємодії. Крім того, в спектрі спостерігається відхилення від адитивності світлопоглинання, що характеризує особливості при взаємодії з ГПА [15].

Крім того, для підтвердження іонно-асоціативного зв'язку в молекулі сполуки аспартаму та ГПА  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  був використаний метод ІЧ-спектроскопії.

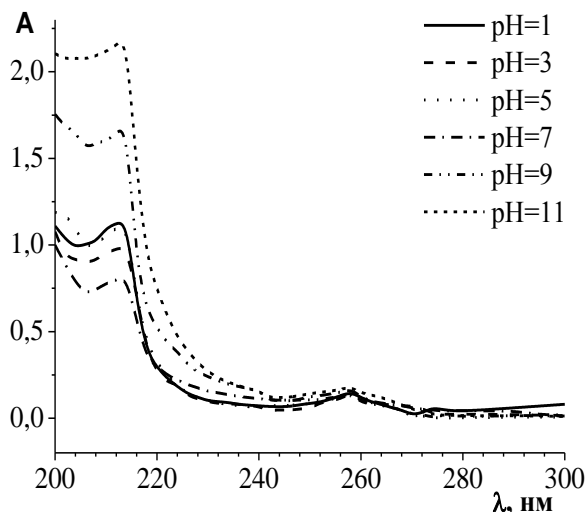


Рис 1. УФ-спектри поглинання розчинів аспартаму в залежності від рН ( $C_{\text{Asp}} = 10^{-5}$  моль/л,  $l = 1$  см)

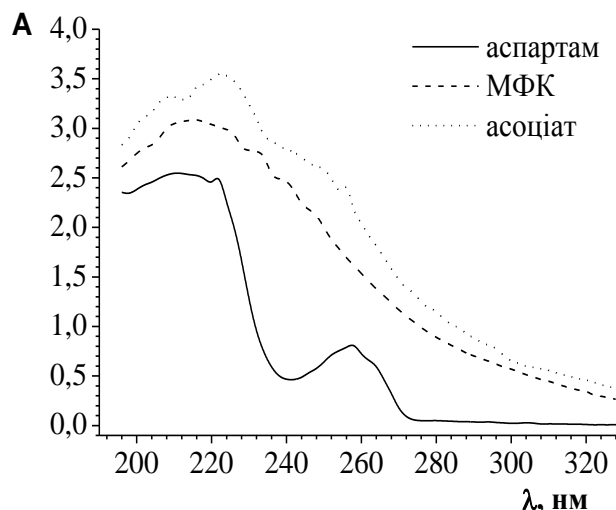


Рис 2. УФ-спектри поглинання водного розчину аспартаму, МФК та асоціату при рН=5.0 ( $C_{\text{Asp}}=C_{\text{МФК}}=1 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $l = 1$  см)

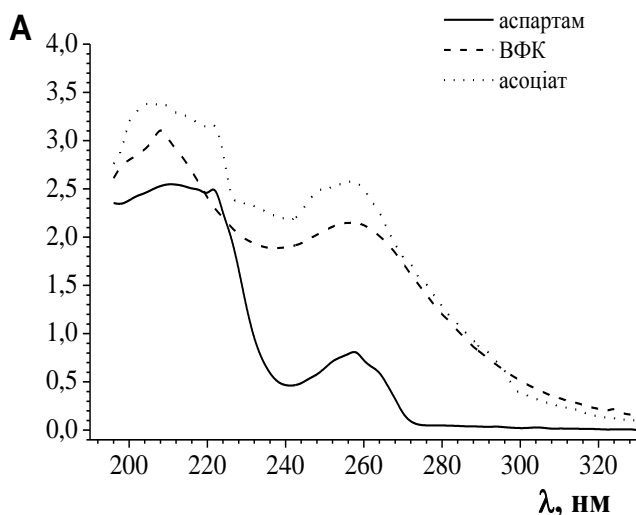
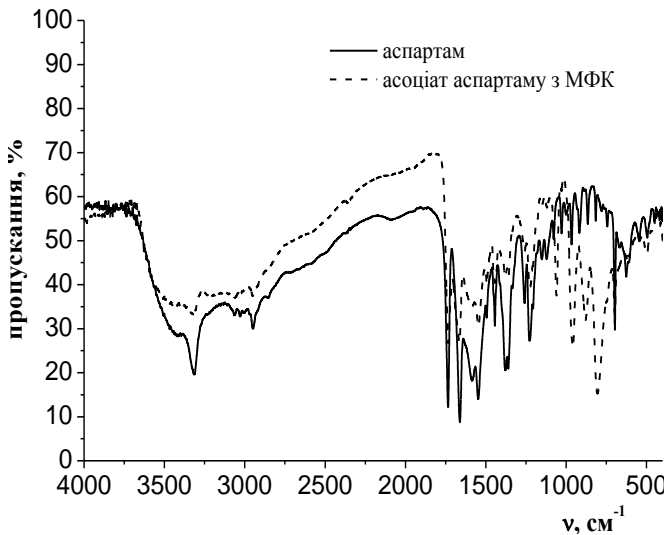


Рис 3. УФ-спектри поглинання водного розчину аспартаму, ВФК та асоціату при рН=5.0 ( $C_{\text{Asp}}=C_{\text{ВФК}}=1 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $l = 1$  см)

і

Рис. 4 ІЧ-спектр 12-молібдофосфатної гетерополікислоти



**Рис. 5** ІЧ-спектр аспартаму та сполуки аспартаму з гетерополіаніоном  $\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$

З літературних даних [15] відомі групи зв'язків у молекулі гетерополікислот структури Кеггіна, що мають коливання: зв'язків  $\text{Me}=\text{O}$ , місткові зв'язки  $\text{Me}-\text{O}-\text{Me}$ ,  $\text{Me}-\text{O}-\text{X}$ , в яких один з атомів Оксигену об'єднує три атоми металу-ліганду і центральний атом-комплексотворювач знаходиться в тетраедричному, а атоми металу-ліганду – в октаедричному оточенні Оксигену.

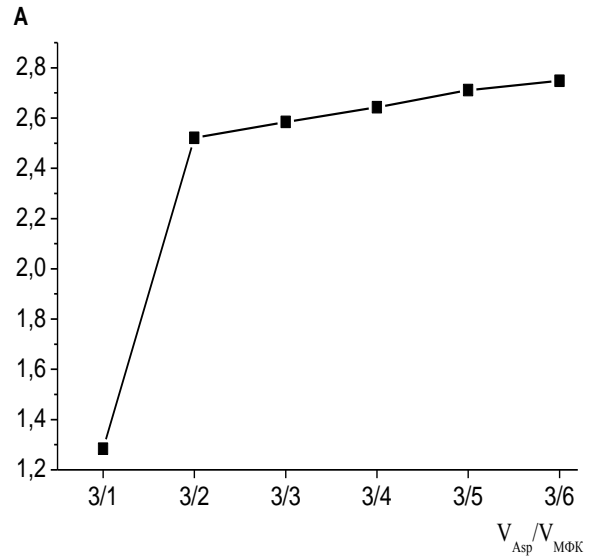
В ІЧ-спектрах аспартаму з ГПА  $(\text{Asp})_3(\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40})_2$  (рис. 5) характеристичні смуги, що зумовлені валентними коливаннями зв'язку метал-Оксиген, зберігаються, що свідчить про незмінність структури гетерополіаніону.

Що стосується смуг, які відповідають коливанням  $\text{C}-\text{H}$  в спектрі аспартаму (рис. 5), то вони зберігаються і в спектрах його сполук з ГПА -  $(\text{Asp})_3(\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40})_2$ , що доводить незмінність структури органічного катіону аспартаму.

В результаті проведеної експериментальної роботи, авторами була вивчена реакція взаємодії синтетичного нітрогеновмісного підсолоджувача аспартам з представником гетерополікислот структури Кеггіна 12 ряду – молібдофосфатною гетерополікислотою.

Отримані результати підтвердили іонно-асоціативний характер зв'язку макроіонів у молекулі малорозчинної сполуки, що отримана взаємодією досліджуваних речовин. Отримані дані були використані при розробці методик кількісного визначення аспартаму: розроблені експресні та чутливі методики визначення підсолоджувача в водних розчинах субстанції та харчовій продукції методами амперометричного титрування та прямої потенціометрії (за допомогою розроблених ІСЕ), які дозволяють проводити аналіз без складних етапів пробопідготовки і попереднього відокремлення заважаючих компонентів.

Також для підтвердження складу асоціатів аспартаму з ГПА при різних значеннях рН середо-



**Рис. 7** Визначення складу асоціату Asp-МФК методом насичення:  $C_{\text{МФК}} = C_{\text{Асп}} = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л

вища спектрофотометричним методом [21] проводили пряме насичення водного розчину молібдофосфатної кислоти (МФК) з концентрацією  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л  $1 \cdot 10^{-4}$  М розчинами аспартаму з рН=4.5-5.

У 6 мірних колб об'ємом 25 мл вводили по 2 мл МФК і додавали у кожен колбу різну кількість водного розчину аспартаму: 1; 2; 3; 4; 5; 6 мл; доводили об'єм кожної колби до риски водою і визначали оптичну густину отриманих розчинів при  $\lambda = 258$  нм,  $l = 1$  см.

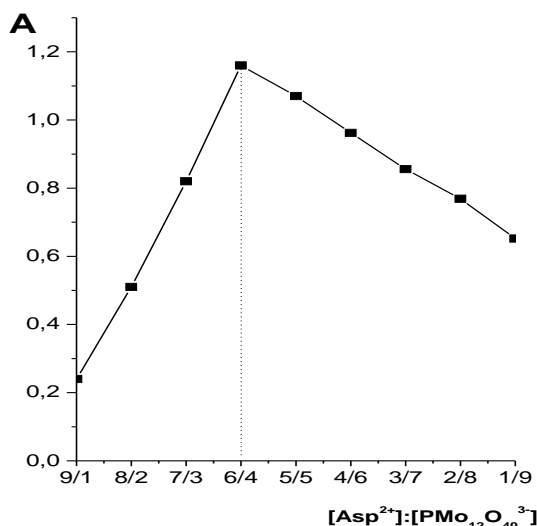
За результатами вимірювань будували криву насичення (рис. 7).

У випадку визначення складу асоціату методом ізомольарних серій, у 9 мірних колб об'ємом 25 мл вводили адіабатні співвідношення аспартаму та МФК (від 9:1 до 1:9) і, доводили об'єм кожної колби до риски водою, після чого визначали оптичну густину отриманих розчинів при  $\lambda = 258$  нм,  $l = 1$  см. За результатами вимірювань будували графік залежності поглинання системи Asp-ГПА від концентрації Asp (рис. 8).

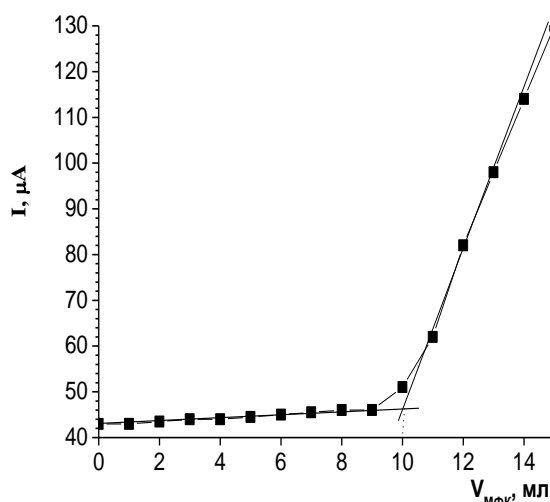
Було встановлено, що співвідношення  $[\text{Asp}^{2+}]:[\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]$  складає 3:2. Це означає, що аспартам в слабкокислотному середовищі утворює з ГПА  $\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  асоціат складу  $(\text{Asp})_3(\text{P}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40})_2$ .

У слабкокислотному середовищі проходить протонізація вільної кінцевої аміногрупи, що міститься в молекулі аспартаму. Появу другого позитивного заряду можна пояснити впливом великого органічного залишку, що зв'язаний з амідною групою (або відщепленням молекули фенілаланіну та відповідно протонізацією вільної аміногрупи даної сполуки).

Аналогічним чином проведені дослідження співвідношення ОК : ГПА спектрофотометричним методом для органічного катіону аспартаму з іншими гетерополіаніонами структури Кеггіна –  $\text{P}\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  та  $\text{Si}\text{M}\text{o}_{12}\text{O}_{40}^{4-}$  (табл. 1).

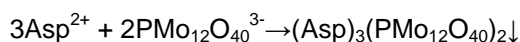


**Рис. 8** Залежність поглинання системи Asp-ГПА від концентрації Asp,  $\lambda = 258 \text{ nm}$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ ,  $V_{\text{МФК}} = 1\text{-}9 \text{ ml}$ ;  $C_{\text{МФК}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ;  $C_{\text{Asp}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$

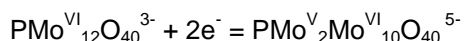


**Рис. 9** Крива амперометричного титрування водного розчину аспартату ( $\text{pH}=5.0$ ) розчином 12-молібдофосфатної гетерополікислоти,  $C_{\text{МФК}} = 1 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$ ;  $V_{\text{Asp}}=6 \text{ ml}$ ;  $C_{\text{Asp}}=2.5 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$

При взаємодії органічного катіону аспартату з ГПА утворюються малорозчинні у воді осадки:



При катодній поляризації в межах від (+ 0,5) до (- 0,5) В органічний катіон підсолоджувача аспартату є неелектроактивною речовиною на відміну від гетерополіаніона 12-молібдофосфатної гетерополікислоти, який на фоні 0.1 М розчину сульфату натрію дає чітку хвилю відновлення двох атомів молібдену (VI):



Величина сили граничного струму даного електродного процесу лінійно залежить від концентрації МФК до  $1 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ . Виходячи з того, що між визначуваною речовиною і титрантом проходить реакція утворення малорозчинної сполуки і титрант є електроактивною речовиною можливе амперометричне титрування розчинів органічного катіону аспартату розчином МФК із індикацією точки еквівалентності за силою дифузійного струму електровідновлення аніону 12-молібдофосфатної гетерополікислоти.

Визначене співвідношення реагуючих компонентів при взаємодії аспартату з гетерополіаніоном структури Кеггіна  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  – за результатами амперометричного титрування ( $n=7$ ,  $P=0,95$ ) складає 3:2.

Подібні дослідження було проведено й з іншими представниками гетерополікислот структури Кеггіна 12-го ряду (12-вольфрамофосфатна та 12-молібдокремнієва гетерополікислоти). Встановлено, що в при взаємодії аспартату з цими кислотами утворюються сполуки складу  $(\text{Asp})_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2$  та  $(\text{Asp})_2\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$  відповідно. За

результатами амперометричного титрування встановлені співвідношення реагуючих компонентів для отриманих сполук, що складають (при  $n=7$ ,  $P=0.95$ )  $\text{Asp} : \text{PW}_{12}\text{O}_{40} = 3 : 2$ ,  $\text{Asp} : \text{SiMo}_{12}\text{O}_{40} = 2 : 1$ .

Отримані дані збігаються з тими, що були отримані спектрофотометричним методом. Результати визначення аспартату у субстанції методом амперометричного титрування при  $\text{pH}=5.0$  наведені в табл. 2.

Аналогічним чином проведені дослідження співвідношення ОК:ГПА досліджуваного органічного катіону аспартату амперометричним методом з іншими гетерополікислотами структури Кеггіна –  $\text{PW}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ ,  $\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}^{4-}$  (табл.1).

**Таблиця 1.** Результати визначення співвідношення реагуючих компонентів ОК : ГПА спектрофотометричним методом ( $n=7$ ,  $P=0.95$ )

Іонний асоціат	Співвідношення ОК : ГПА
$(\text{Asp})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$	$(3.04 \pm 0.05) : (2.03 \pm 0.02)$
$(\text{Asp})_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2$	$(3.01 \pm 0.02) : (2.05 \pm 0.04)$
$(\text{Asp})_2\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$	$(2.03 \pm 0.03) : (1.02 \pm 0.01)$

Правильність результатів амперометричного визначення аспартату в субстанції оцінюють за допомогою метода добавок (табл. 2). До аліквоти 6,0 мл аналізованого розчину аспартату додають 1.0 мл та 2.0 мл стандартного розчину аспартату з концентрацією 1.0 мг/мл та проводять амперометричне титрування. Отримані дані (табл. 2) підтверджують правильність результатів визначення аспартату у субстанції амперометричним методом та відсутність систематичної помилки.

**Таблиця 2.** Результати амперометричного визначення аспартаму в субстанції при рН = 5.0 та перевірка результатів правильності визначення (n=7, P=0.95)

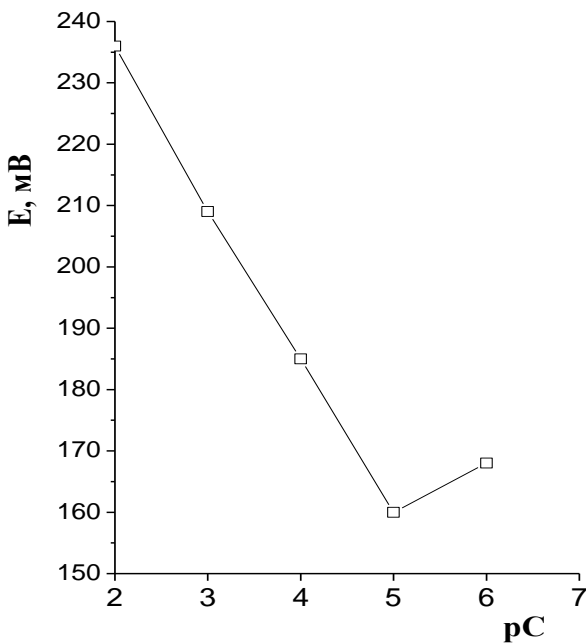
Аналізований зразок	Вміст аспартаму в аліквоті, мг	Додаток, мг	Знайдено аспартаму, (x ± δ) мг	Sr
		-	(44.5 ± 0.3) мг	0.01
Субстанція аспартаму	44.4 мг	1.00	45.5 ± 0.2 мг	0.01
		2.00	46.7 ± 0.3 мг	0.01

**Таблиця 3.** Залежність електродних характеристик ICE від рН розчину

Характеристики електроду (Asp) <sub>3</sub> (PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	рН					
	3	4	5	6	7	8
S, мВ	11	28	27	29	12	8
Інтервал лінійності	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-4</sup>
S <sub>min</sub> , моль/л	1·10 <sup>-3</sup>	8·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-4</sup>	3·10 <sup>-3</sup>	5·10 <sup>-3</sup>
Характеристики електроду (Asp) <sub>3</sub> (PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	рН					
	3	4	5	6	7	8
S, мВ	20	23	29	28	20	12
Інтервал лінійності	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>
S <sub>min</sub> , моль/л	1·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	3·10 <sup>-4</sup>	2·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-3</sup>
Характеристики електроду (Asp) <sub>2</sub> SiMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub>	рН					
	3	4	5	6	7	8
S, мВ	9	27	29	29	15	7
Інтервал лінійності	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1.5·10 <sup>-4</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-2</sup> -1·10 <sup>-3</sup>
S <sub>min</sub> , моль/л	1·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	7·10 <sup>-4</sup>	4·10 <sup>-3</sup>	1·10 <sup>-3</sup>

**Таблиця 4.** Залежність електродних характеристик ICE, оборотних до аспартаму, від різних чинників

Пластифікатор	Склад ЕАР	Вміст ЕАР у мембрані, г	S, мВ/р	Інтервал лінійності, моль/л	S <sub>min</sub> , моль/л	Час життя, доба
ДБФ	(Asp) <sub>3</sub> (PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	25	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	40-45
		m=0.01	27	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	50-60
	(Asp) <sub>3</sub> (PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	24	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	30-40
		m=0.01	22	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	50-55
	(Asp) <sub>2</sub> SiMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub>	m=0.005	23	10 <sup>-2</sup> -8·10 <sup>-5</sup>	8·10 <sup>-5</sup>	45-50
		m=0.01	19	10 <sup>-2</sup> -6·10 <sup>-5</sup>	6·10 <sup>-5</sup>	55-60
ДОФ	(Asp) <sub>3</sub> (PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	34	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	40-45
		m=0.01	29	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	30-35
	(Asp) <sub>3</sub> (PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	19	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	35-40
		m=0.01	24	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	40-45
	(Asp) <sub>2</sub> SiMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub>	m=0.005	27	10 <sup>-2</sup> -5·10 <sup>-5</sup>	5·10 <sup>-5</sup>	40-45
		m=0.01	23	10 <sup>-2</sup> -4·10 <sup>-5</sup>	4·10 <sup>-5</sup>	40-45
ТКФ	(Asp) <sub>3</sub> (PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	29	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	25-30
		m=0.01	29	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	25-30
	(Asp) <sub>3</sub> (PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ) <sub>2</sub>	m=0.005	29	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	10-20
		m=0.01	28	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-5</sup>	1·10 <sup>-5</sup>	10-15
	(Asp) <sub>2</sub> SiMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub>	m=0.005	29	10 <sup>-2</sup> -3·10 <sup>-5</sup>	3·10 <sup>-5</sup>	30-35
		m=0.01	29	10 <sup>-2</sup> -7·10 <sup>-5</sup>	7·10 <sup>-5</sup>	30-35



**Рис.10** Залежність потенціалу ICE від концентрації Asp при pH = 5.0 (EAP – (Asp)<sub>3</sub>(PМо<sub>12</sub>O<sub>40</sub>)<sub>2</sub>, m<sub>EAP</sub> = 0.01 г, розчинник – ТКФ)

Але розроблена методика має невелику нижню межу визначення визначуваного іону (на рівні 5·10<sup>-3</sup> моль/л), що не відповідає вимогам по чутливості методів визначення кількісного вмісту речовини. Тому дана методика була використана лише для визначення синтетичного підсолоджувача аспартам у субстанції.

Для розробки нових методів кількісного визначення аспартаму важливим аспектом є врахування їх фізичних та хімічних особливостей. Після вивчення методами УФ– та ІЧ–спектроскопії складу синтезованих малорозчинних асоціатів аспартаму з ГПА, вони були використані як EAP в плівкових полівінілхлоридних мембранах ICE, оборотних до органічного катіону аспартаму. Використання ICE, в мембрану якого входить асоціат катіону аспартаму з гетерополіаніоном PМо<sub>12</sub>O<sub>40</sub><sup>3-</sup> як EAP, дозволяє розробити методику прямого потенціометричного визначення підсолоджувача в промисловій продукції.

Для побудови градууювального графіку готують серію стандартних розчинів аспартаму з концентраціями Asp від 1.0·10<sup>-6</sup> до 1.0·10<sup>-2</sup> моль/л. pH приготованих розчинів доводять до 5.0 розчином гідроксиду натрію.

Перед використанням ICE вимочують в розчині з концентрацією, яка відповідає середині діапазону вмісту визначуваної речовини. Розроблений ICE має нахил електродної функції близький до теоретичного для двозарядного катіона (29 мВ/pC) при pH=5.0 в інтервалі концентрацій 1.0·10<sup>-5</sup> – 1.0·10<sup>-2</sup> моль/л (рис. 10). Отримані дані наведені в табл. 3, 4

Аналіз отриманих експериментальних даних показав, що оптимальні електродні характеристики має ICE з наступними параметрами:

- електродноактивна речовина має склад (Asp)<sub>3</sub>(PМо<sub>12</sub>O<sub>40</sub>)<sub>2</sub>;
- кількісний вміст EAP у мембрані ICE дорівнює 0.01 г;
- розчинник-пластифікатор – трикрезилфосфат.

Час відгуку електродів складав 40 - 50 с, інтервал лінійності залежності E=f (pC) – від 10<sup>-5</sup> до 10<sup>-2</sup> моль/л з кутовим нахилом S=28-30, близьким до Нернстівського значення для двозарядних катіонів. Важливою електродною функцією ICE є його селективність до потенціалвизначуваного іона на фоні можливого ряду заважаючих іонів.

В основі методу визначення коефіцієнтів селективності ICE лежить рівняння для мембранного потенціалу електрода, що знаходиться у змішаному розчині [22]:

$$E = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg \left[ a_i + \sum K_{i/j}^{pot} \cdot a_j^{z_i/z_j} \right],$$

де S – нахил калібрувального графіка ICE, z<sub>i</sub> і z<sub>j</sub> – заряди основного та заважаючого іонів, K<sup>pot</sup><sub>i/j</sub> – потенціометричний коефіцієнт селективності, величина якого показує ступінь впливу заважаючого іона j на потенціал електрода, що визначається іоном i.

Коефіцієнти селективності ICE на аспартам визначені методом змішаних розчинів, який базується на вимірюванні потенціалів у змішаних розчинах зі сталим вмістом заважаючого іона j і змінною концентрацією визначуваного іона i [128].

Коефіцієнти селективності ICE на аспартам відносно різних органічних та неорганічних катіонів наведені в табл. 5.

**Таблиця 5.** Потенціометричні коефіцієнти селективності K<sub>i/j</sub> ICE, оборотних до аспартаму (i – визначуваний катіон, j – заважаючий катіон)

Заважаючий іон	K <sub>i/j</sub>
K <sup>+</sup>	0.020
Na <sup>+</sup>	0.020
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.200
Ba <sup>2+</sup>	0.020
Mg <sup>2+</sup>	0.020
Сахарин	0.128
Ацесульфам К	0.128
Цикламат	0.013

Як видно з таблиці 5, неорганічні катіони натрію, калію, барію, магнію та присутність синтетичних підсолоджувачів (ацесульфам К, сахарин, цикламат) не чинять суттєвого впливу на роботу розробленого ICE в присутності їх 50-кратного надлишку. Методика прямого потенціометричного визначення аспартаму апробована на зразках промислової продукції.



**Таблиця 6.** Результати визначення аспартаму безалкогольному газованому напої «Лимонад» потенціометричним та фотометричним методами та перевірка правильності потенціометричного визначення підсолоджувача (n = 7, P = 0.95)

Аналізований зразок	Вміст аспартаму, мг	Додаток, мг	Методика	Знайдено аспартаму (x ± δ), мг	S <sub>r</sub>
Газований напій «Лимонад»	5.10	-	Пряма потенціометрія	5.11±0.05	0.01
		1.0		6.120±0.047	0.012
		2.0		7.14±0.03	0.01
	1.05	-	Фотометрія з нінгідрином	1.12±0.03	0.04
		1.0		2.120±0.023	0.031
		2.0		3.160±0.029	0.035

**Таблиця 7.** Результати визначення аспартаму в вітамінізованому шипучому напої потенціометричним та фотометричним методами та перевірка правильності потенціометричного визначення підсолоджувача (n = 7, P = 0.95)

Аналізований зразок	Вміст аспартаму, мг	Методика	Додаток, мг	Знайдено аспартаму (x ± δ), мг	S <sub>r</sub>
Вітамінізований шипучий напій «Haas»	10.1	Пряма потенціометрія	-	10.15 ± 0.11	0.01
			1.0	11.130 ± 0.052	0.013
			2.0	12.14 ± 0.04	0.02
	1.050	Фотометрія з нінгідрином	-	1.140±0.038	0.037
			1.0	2.130±0.026	0.028
			2.0	3.145±0.021	0.029

*Методика визначення аспартаму в безалкогольному газованому напої «Лимонад»*

Аліквоту напою (25.0 мл) попередньо дегазують та доводять кислотність середовища розчином HCl<sub>розв</sub> до рН=5.0. Отриманий розчин переносять до електрохімічної комірки та вимірюють електрорушійну силу системи. Концентрацію аспартаму знаходять за градувальним графіком (рис. 10). Результати визначення аспартаму в безалкогольному газованому напої «Лимонад» методом прямої потенціометрії порівнюють з результатами стандартної фотометричної методики визначення підсолоджувача за реакцією з нінгідрином (табл. 6).

Правильність результатів прямого потенціометричного та спектрофотометричного визначення аспартаму в напої оцінюють за допомогою метода добавок (табл. 6). До аліквоти 25.0 мл аналізованого розчину додають по 1.0; 2.0 та 3.0 мл стандартного розчину з концентрацією 1.0 мг/мл, після кожної добавки вимірюють електродний потенціал.

Отримані експериментальні дані (табл. 6) підтверджують правильність результатів визначення аспартаму в напої «Лимонад» методом прямої потенціометрії та відсутність систематичної помилки.

*Методика визначення аспартаму в вітамінізованому шипучому напої «Haas»*

Таблетку шипучого напою, що містить 50 мг аспартаму розчиняють у дистильованій воді. Отриманий розчин кількісно переносять у мірну колбу на 100.0 мл та підлучують розчином NaOH<sub>розв</sub> до рН =5.0 та доводять до мітки водою.

З отриманого розчину відбирають аліквоту 25.0 мл, кількісно переносять її до електрохімічної комірки та вимірюють електрорушійну силу системи. Концентрацію аспартаму знаходять за градувальним графіком (рис. 10).

Результати визначення аспартаму в вітамінізованому шипучому напої методом прямої потенціометрії порівнюють з результатами його визначення за стандартною фотометричною методикою (табл. 7). Правильність результатів прямого потенціометричного та спектрофотометричного визначення аспартаму у вітамінізованому шипучому напої оцінюють за допомогою метода додатків.

До аліквоти (25.0 мл) аналізованого розчину додають по 1.0; 2.0 та 3.0 мл стандартного розчину з концентрацією 1.0 мг/мл, після кожної добавки вимірюють електродний потенціал (табл. 7). Отримані дані підтверджують правильність результатів визначення аспартаму в вітамінізованому шипучому напої методом прямої потенціометрії та відсутність систематичної помилки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Павлова Л.А., Комарова Т.В., Давидович Ю.А. Аспартам и его аналоги. *Успехи химии*. 1981, 40(4), 593-605.
2. Дорохович А.Н., Яременко О.М., Дорохович В.В. Синтетические подсластители, их преимущества и недостатки применения при производстве кондитерских изделий. *Продукты и ингредиенты*. 2007, (3), 48-52.
3. Feng Qu, Zhu-Hua Qi, Ke-Na Liu, Shi-Fen Mou Determination of aspartame by ion chromatography with electrochemical integrated amperometric detection. *J. Chrom.* 1999, 850(2), 277-281.
4. ГОСТ Р 50502-93 Напитки безалкогольные. Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия. Введ. 18.02.93. М.: Изд-во стандартов, 8 с.
5. Nantachit K., Putiyanan S., Phoowiang P. Identification and determination methods of synthetic sweetener, aspartame. *KMITL Sci. J.* 2008, 8(2), 32-39.
6. Anik Kirgöz Ü., Odaci D., Timur S., Merkoci A., Alegret S., Beşün N., Telefoncu A. A biosensor based on graphite epoxy composite electrode for aspartame and ethanol detection. *Anal. Chim. Acta.* 2006, 570(2), 165-169.
7. Capitan-Vallvey L.F., Valencia M.C., Arana Nicolas E. Flow-through spectrophotometric sensor for the determination of aspartame in low-calorie and dietary products. *Anal. Sci.* 2004, 20(5), 1437-1442.
8. Armenta S., Garrigues S., Miguel de la Guardia FTIR determination of aspartame and acesulfame-K in tabletop sweeteners. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 7798-7803.
9. Dattatreya B.S., Usha D.V., Susheelamma N.S., Bhat K.K. Aspartame: studies on UV spectral characteristics. *International J. Food Sci. Tech.* 2003, 38(2), 767-775.
10. Oi-Wah Lau, Shiu-Fai Luk, Wai-Ming Chan Spectrophotometric determination of aspartame in soft drinks with ninhydrin as reagent. *Analyst.* 1988, 113(2), 765-768.
11. Hamano T., Mitsuhashi Y., Aoki N., Yamamoto S. Enzymic method for the spectrophotometric determination of aspartame in beverages. *Analyst.* 1990, 115(5), 435-438.
12. Балаховский И.С. Определение суммарного количества аминокислот в крови и других биологических жидкостях. *Лаб. дело*. 1977, (4), 213-216.
13. Половодова Н.В. Разработка спектрофотометрической методики определения кислоты аспарагиновой на основе реакции с нингидрином. *Молодежная наука Прикамье*. 2002: Тез. докл. обл. науч. конф. молодых ученых, студентов и аспирантов, Пермь, 6-9 декабря 2002 г, Пермь, 2002, 162.
14. Никольский Б.П., Матерова Е.А. Ионселективные электроды. Л.: Химия, 1980, С. 240.
15. Никитина Е.А. Гетерополисоединения. М.: Госхимиздат, 1962, С. 305.
16. Ткач В.І., Карандеева Н.І., Циганок Л.П., Вишнікін А.Б. Використання гетерополіаніонів структури Кеггіна в аналізі органічних сполук. *Дніпропетровськ: УДХТУ*, 2002, С. 184.
17. Ткач В.І. Гетерополіаніони як аналітичні реагенти на азотвміщуючі органічні речовини. *Дніпропетровськ: ДДУ*, 1995, С. 196.
18. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Высшая школа. 1971, С. 132.
19. Браун Д., Флloyd А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ Пер. с англ. А.А. Кирюшкина. М.: Мир, 1992, С. 302.
20. Камман К. Работа с ионселективными электродами. Пер. с нем. М.: Мир, 1980, С. 283.
21. Пашинова О.В., Ткач В.І. Визначення складу асоціату аспартам- гетерополіаніон 12-молібдофосфатної гетерополікислоти електрохімічним та спектрофотометричним методами. *Вопросы химии и химической технологии*. 2011, (5), 77-80.
22. Никольский Б.П., Матерова Е.А. Ионселективные электроды. Л.: Химия, 1980. С. 240.