

Universiteit Utrecht



Kauwgom



Wat zit er in?

Een project voor 5/6 VWO

1. Inleiding en theorie

In klas 3 ben je begonnen met de analysemethode papierchromatografie. Het doel van deze analyse was om te kijken of kleurstoffen uit verschillende kleuren bestaan. Daarna heb je in klas 5 of 6 VWO verschillende andere instrumentele analyses gehad zoals gaschromatografie, spectroscopie en massaspectroscopie. Met deze methodes kun je nauwkeurig stoffen en hoeveelheden analyseren.

Nu gaan we een stapje verder met twee nieuwe instrumentele analyse technieken namelijk Atomaire Absorptie Spectrometrie (AAS) en High Performance Liquid Chromatografie (HPLC). Deze technieken kun je op je eigen school niet uitvoeren omdat de apparatuur te duur is voor een school om aan te schaffen. De basis van de twee technieken die jullie gaan toepassen, AAS en HPLC, heb je gehad tijdens de scheikundeles op school.

Met deze twee technieken kun je atomen en moleculen aantonen. Voor deze opdracht hebben we gekozen om kauwgom te analyseren. We gaan het calciumgehalte bepalen en een aantal zoetstoffen analyseren.

Kauwgom is een wereldwijd veel verkocht product. In Nederland werd in 1948 de eerste kauwgomfabriek gebouwd. Vandaag de dag eten Nederlanders samen elk jaar vijf miljoen kilo kauwgom. Dat is per persoon 350 kauwgompjes per jaar dus elke dag een kauwgom per persoon.

Kauwgom bestaat uit een elastische gombasis, zoet-, smaak- en kleurstoffen, anorganische stoffen en anti-oxidanten. De gombasis moet in de mond zacht genoeg zijn om te kauwen, het moet niet in water oplossen, het mag geen eigen smaak hebben en niet teveel plakken. Om dit te bereiken bestaat de gombasis uit een mengsel van bepaalde rubberachtige stoffen, harsen, elastomeren en vetten. Bovendien wordt krijt toegevoegd om hinderlijk plakken te voorkomen.

Gom is afkomstig uit de Eucalyptusboom en is duur en vrij zeldzaam. Om deze redenen ging men zoeken naar een vervanger voor de natuurlijke gom. Die is gemaakt van kunstmatige stoffen. In de fabriek wordt de synthetische gom in grote ketels verwarmd. De gom verandert dan in een soort olie. Als die olie afkoelt, heb je gomdeeg. Die kan worden gekneed. Er gaan dan nog andere ingrediënten door, zoals suiker en kleurstoffen. Daarna worden nog synthetische smaakmakers toegevoegd.

De kauwgoms die we gaan onderzoeken zijn; Stimerol, Sportlife, AH kauwgom en Xylifresh.

2. Aspartaam, een veel gebruikte zoetstof

Mensen houden al heel lang van zoet. In het stenen tijdperk gebruikten ze al honing als zoetmiddel. De Indiërs wisten als eersten gekristalliseerde suiker (sacharose) uit rietsuiker te halen.

In de late middeleeuwen was suiker, rietsuiker uit Indië, een betaalmiddel voor de allerrijksten. De prijs van 5 kilogram suiker was gelijk aan die van een complete ridderuitrusting.

Aspartaam heeft een heel andere structuur dan de suikers, xylitol of sorbitol. Aspartaam is een dipeptide.

Vragen:

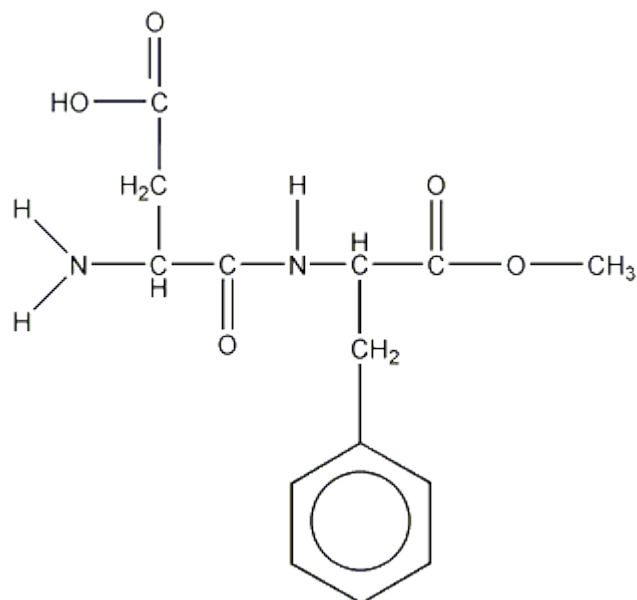
- Wat is het verschil in zoetkracht tussen natuurlijke, extensieve en intensieve zoetstoffen?
- Tot welke soorten verbindingen behoren de zoetstoffen?
- Hoeveel zoeter is aspartaam dan suiker?
- Intensieve zoetstoffen worden vaak aangeduid met een E-nummer. Wat is dit eigenlijk voor een code? Kijk maar eens op het Voedingscentrum en zoek zelf het E-nummer van aspartaam op.

2.1 Structuurformule van aspartaam

Aspartaam is een kunstmatige zoetstof en smaakt ongeveer 200 keer zo zoet als suiker. Daarom heb je er altijd maar heel weinig van nodig. Op die manier krijg je nauwelijks energie binnen. Aspartaam wordt dan ook veel toegepast in light-producten.

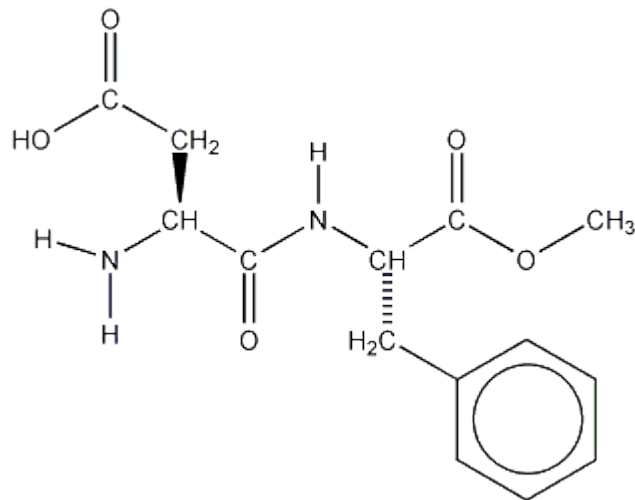
Andere synthetische intensieve zoetstoffen zijn: cyclamaat, acesulfaam-K, saccharine, sucralose, alitaam en neotaam.

De structuur van een molecuul kunnen we in twee dimensies met een structuurformule weergeven. Dat zijn jullie al gewend. De molecuulformule van aspartaam is bijvoorbeeld $C_{14}H_{18}N_2O_5$. De structuurformule ziet er zo uit:



Aspartaam

Om de structuurformule van aspartaam (zie hieronder) nauwkeuriger weer te geven kun je gebruikmaken van verschillende weergaven voor de atoombindingen. Als je je voorstelt dat het molecuul op het oppervlak van het scherm (of op een vel papier) ligt, liggen de meeste bindingen in dit vlak. Deze geef je weer met een gewone streep. De bindingen die zich achter het vlak van het scherm bevinden kun je dan weergegeven met een streepjeslijn "-----" en degene die voor het vlak van het scherm zitten met een vette streep "▬" :



Aspartaam

Hoewel wij op deze manier meer informatie krijgen over de ruimtelijke structuur van een verbinding hebben we nog geen compleet overzicht. Pas indien een molecuulmodel in drie dimensies wordt weergegeven is dit mogelijk. Dit noemen we stereochemie.

Stereochemie

In het dagelijks leven komen veel voorwerpen in paren voor die elkaars spiegelbeeld zijn, maar niet identiek zijn. Voorbeelden hiervan zijn onze handen en voeten. Zij zijn asymmetrisch. Dat wil zeggen dat er geen inwendig spiegelvlak (symmetrievlak) in het voorwerp aanwezig is. Dit geldt ook voor de twee schelpen die je hieronder ziet afgebeeld.

In de plaatjes hieronder staat de stippellijn voor een spiegel. Als je je linkerhand voor een spiegel houdt, zie je in de spiegel je rechterhand afgebeeld: het spiegelbeeld.



Je handen lijken op elkaar, maar zijn niet precies hetzelfde. Probeer ze maar eens over elkaar te leggen met de handpalmen naar boven. Je ziet dat de duimen dan altijd in

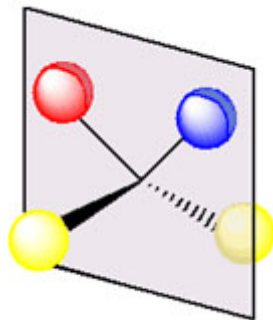
verschillende richtingen wijzen. Dit komt omdat de handen een asymmetrische vorm hebben.

Asymmetrische moleculen

Als de volgorde van de atomen of atoomgroepen in twee moleculen dezelfde is, maar de atomen of atoomgroepen zijn ruimtelijk ten opzichte van elkaar anders gerangschikt, dan spreken we van stereo-isomerie.

We noemen de ruimtelijke rangschikking configuratie.

Als het goed is heb je bij modellen bestuderen ontdekt dat er pas sprake is van twee verschillende spiegelbeelden als er een asymmetrisch koolstofatoom in het molecuul zit. Een asymmetrisch C-atoom is een koolstofatoom waaraan vier verschillende groepen zitten. Verder mag er geen inwendig spiegelvlak in het molecuul aanwezig zijn.



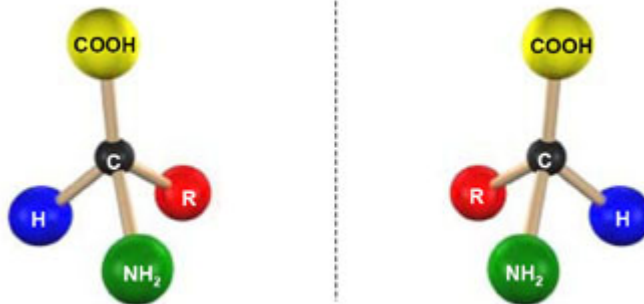
Een molecuul met een inwendig spiegelvlak

Een molecuul met een asymmetrisch koolstofatoom heeft altijd een spiegelbeeld dat niet identiek is. De beide moleculen zijn spiegelbeeldisomeren van elkaar, net zoals je beide handen. Er is sprake van asymmetrische of chirale moleculen.

Het woord chiraal is afgeleid van het Griekse woord voor hand.

Deze vorm van stereo-isomerie wordt optische isomerie genoemd.

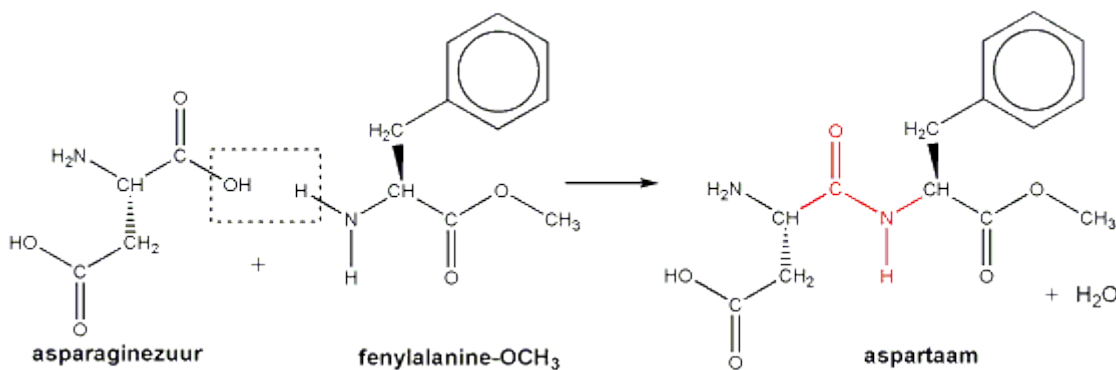
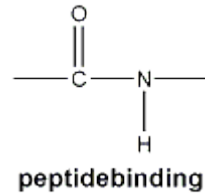
De twee spiegelbeeldisomeren noemen we ook wel enantiomeren.



2.3 Synthese van aspartaam

Aspartaam wordt gemaakt uit twee aminozuren. Preciezer gezegd uit het aminozuur asparaginezuur en uit de methylester van het aminozuur fenylalanine. (BINAS tabel 67 C1)

Bij de reactie tussen twee aminozuren wordt water afgesplitst en ontstaat er een peptidebinding:



In werkelijkheid gaat de synthese een stuk ingewikkelder.

Aspartaam is samengesteld uit twee aminozuren, preciezer gezegd uit het aminozuur asparaginezuur en uit de methylester van het aminozuur fenylalanine. De twee bouwstenen zijn aan elkaar gekoppeld via een peptide (-CO-NH-) binding. Aspartaam is dus een dipeptide.

Stereochemie van de bouwstenen van aspartaam

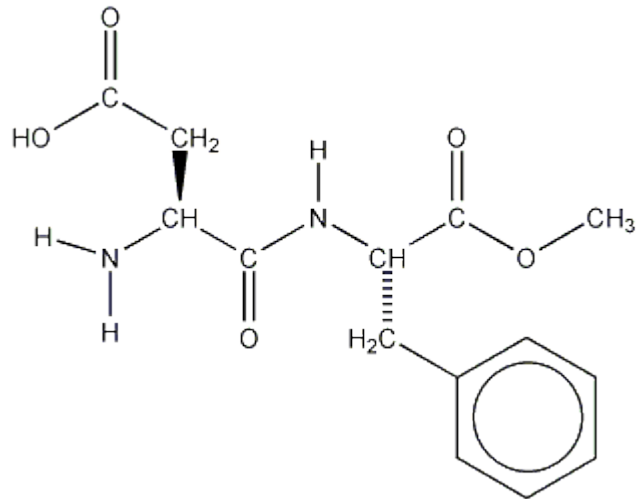
Zoals al eerder is genoemd wordt aspartaam gemaakt uit asparaginezuur en de methylester van fenylalanine.

Als je goed naar de structuurformules kijkt dan ontdek je dat er in bijna ieder aminozuur een asymmetrisch koolstofatoom aanwezig is; alleen glycine wijkt af. Van ieder aminozuur (behalve glycine) bestaan dus twee enantiomeren (spiegelbeeldisomeren): L en D. Beide enantiomeren zijn moeilijk van elkaar te scheiden, omdat de meeste eigenschappen zoals kookpunt, smeltpunt, dichtheid enz. hetzelfde zijn.

Onderscheid tussen L en D kan worden gemaakt met behulp van een stereospecifiek enzym. Dat is een enzym dat maar met één van de twee enantiomeren reageert. Door de optische activiteit te meten in een polarimeter kan ook onderscheid tussen L en D worden gemaakt.

Aspartaam wordt gemaakt uit het aminozuur asparaginezuur en uit de methylester van het aminozuur fenylalanine. Van beide aminozuren bestaan er twee enantiomeren (spiegelbeeldisomeren) L en D. Dus om aspartaam te maken zijn er vier mogelijkheden.

Als je nu naar de structuur van aspartaam kijkt dan zie je dat er twee asymmetrische C*-atomen in het molecuul aanwezig zijn. In het algemeen zijn er 2^n isomeren, als er meerdere (n) asymmetrische koolstofatomen in een verbinding zitten. In het geval van aspartaam is $n = 2$ dus zijn er $2^2 = 4$ mogelijkheden: LL en DD
LD en DL



De moleculen die stereo-isomeren zijn en spiegelbeeld van elkaar zijn, noemen we enantiomeren.

De moleculen die stereo-isomeren zijn maar geen spiegelbeeldisomeren zijn, noemen we diastereomeren.

De fysische eigenschappen van enantiomeren zijn precies dezelfde, maar de fysische eigenschappen van diastereomeren zijn verschillend.

Stereospecifieke synthese van aspartaam

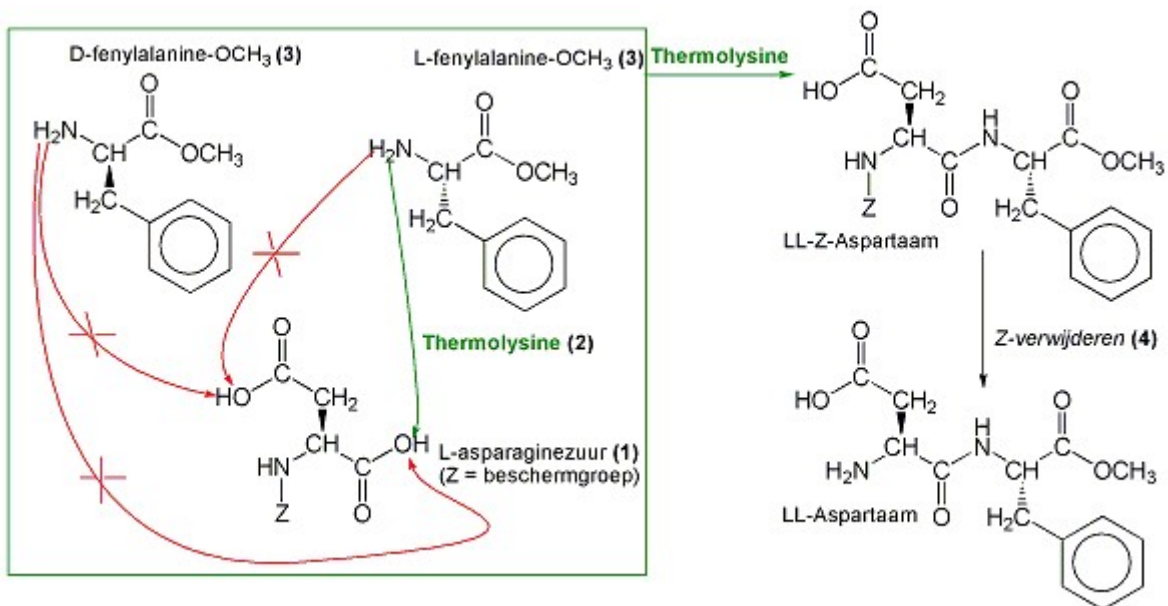
Zoals je net hebt ontdekt, zijn er vier mogelijke stereo-isomeren van aspartaam, die alle vier optisch actief zijn. Het grappige is dat de verschillende stereo-isomeren ook verschillend smaken.

LL: zoete smaak
DD: bittere smaak

LD: neutrale smaak
DL: neutrale smaak

Het is dus van het uiterste belang om de synthese zodanig uit te voeren dat de zoetstof aspartaam (LL) ontstaat.

Dat gebeurt met het stereospecifieke enzym thermolysine. Hier zie je de reactie in stappen uitgebeeld. De genummerde onderdelen worden eronder toegelicht.



Toelichting:

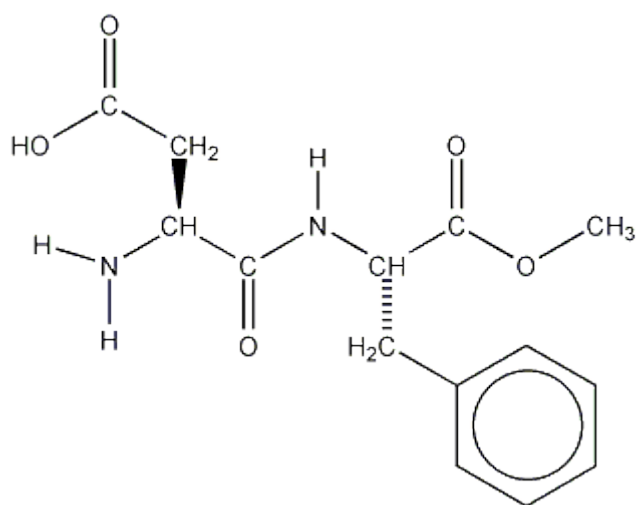
(1) Bij asparaginezuur wordt de aminogroep $-NH_2$ beschermd door een groep Z. Hierdoor is het N-atoom niet meer reactief. Daardoor kunnen er geen asparaginezuur moleculen onderling met elkaar reageren. Van asparaginezuur kunnen dus slechts de beide carboxylgroepen $-COOH$ met fenylalanine- OCH_3 reageren.

(2) Het enzym thermolysine is van nature zo 'geprogrammeerd' dat deze alleen maar reageert met die carboxylgroep die aan een C-atoom gebonden is waaraan ook een stikstofatoom zit. De andere carboxylgroep hoeven we dus niet te beschermen.

(3) Van fenylalanine- OCH_3 kan alleen de aminogroep $-NH_2$ reageren. Er zijn twee enantiomeren aanwezig: L en D. Ook hier 'begrijpt' het enzym slechts het natuurlijke L-spiegelbeeldisomeer.

(4) Na de enzymatische koppeling hoeft alleen nog de beschermgroep Z te worden verwijderd.

Proef 1: Bepaling zoetstoffen in kauwgom met behulp van HPLC



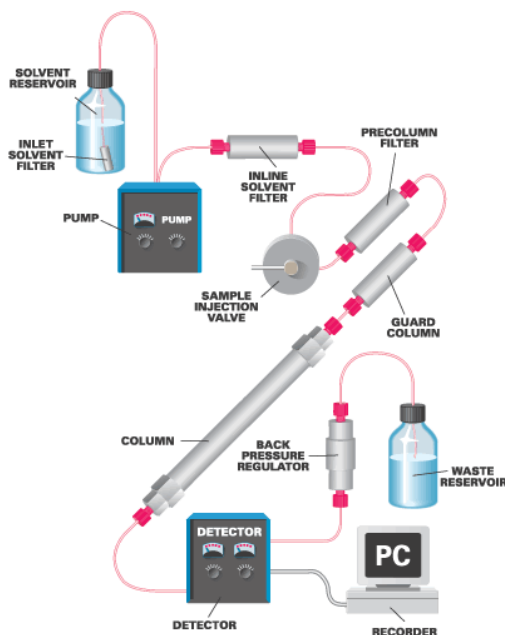
Bepaling zoetstoffen mbv HPLC

Tegenwoordig is veel kauwgom "suikervrij" dat wil zeggen dat er om de kauwgom zoet te laten smaken een zoetstof wordt toegevoegd.

3.1 Wat is HPLC?

High-performance liquid chromatography (HPLC) is een scheidingsmethode; het is vloeistofchromatografie waarbij het eluens (loopvloeistof) onder hoge druk door een sterk gepakte kolom wordt geperst. De druk kan voor normale HPLC oplopen tot zo'n 200 bar. Door de hoge druk en het goede contact met de stationaire fase wordt een relatief grote snelheid bereikt van de scheiding, en een zeer goede resolutie. Een typische looptijd voor de meting van één monster met HPLC ligt tussen de 5 en 60 minuten.

Het monster wordt geïnjecteerd met een injector. Deze injector is een soort kraan met een *loop* eraan, een lus met een nauwkeurig bekend volume (gewoonlijk 5µl-5mL). Met een injectiespuit vult men deze loop, waarna de stand van de kraan wordt gedraaid, zodat het monster in het systeem wordt geïnjecteerd. Hierna mengt het zich met de loopvloeistof, de *mobile fase*, meestal een mengsel van polaire oplosmiddelenwater, methanol en/of acetonitril. Door de relatief hoge snelheid van het eluens, vindt er nauwelijks diffusie plaats van het monster in de oplosmiddelen. Het mengsel gaat vervolgens door een kolom heen, onder hoge druk. Vaak wordt gedurende de scheiding de samenstelling van de loopvloeistof langzaam veranderd om alle componenten van het monster door de kolom te leiden. Immers, deeltjes die in het ene oplosmiddel liever aan de kolom blijven plakken (dus slechter oplosbaar zijn in dat oplosmiddel), kunnen in het andere oplosmiddel wel van de kolom komen (dus beter oplosbaar zijn in dat oplosmiddel). Door te spelen met deze gradiënt-verhoudingen kunnen verschillende componenten van elkaar gescheiden worden. Andere factoren die van belang zijn bij de scheiding zijn: samenstelling van het eluens (pH, toevoeging van hulpstoffen), kolomtype, doorstromingsnelheid (flow), lengte van de leidingen.

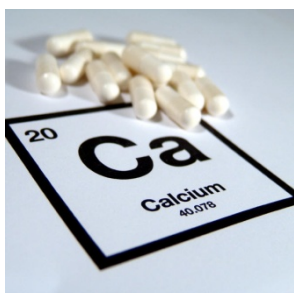


3.2 Voorschrift maken extract voor zoetstoffenbepaling via HPLC

Voorschrift maken van het extract

- Weeg ongeveer ± 10 gram kauwgom af.
- Verhard de kauwgom door afkoelen met vloeibare stikstof of in een vriezer.
- Daarna fijnstampen en mengen met celiet (3+1 w/w)
- Vervolgens extractie met 100 mL water bij 70° gedurende 1 uur. Gebruik hiervoor een rotatieverdamer.

Proef 2: Calciumbepaling in kauwgom met behulp van AAS



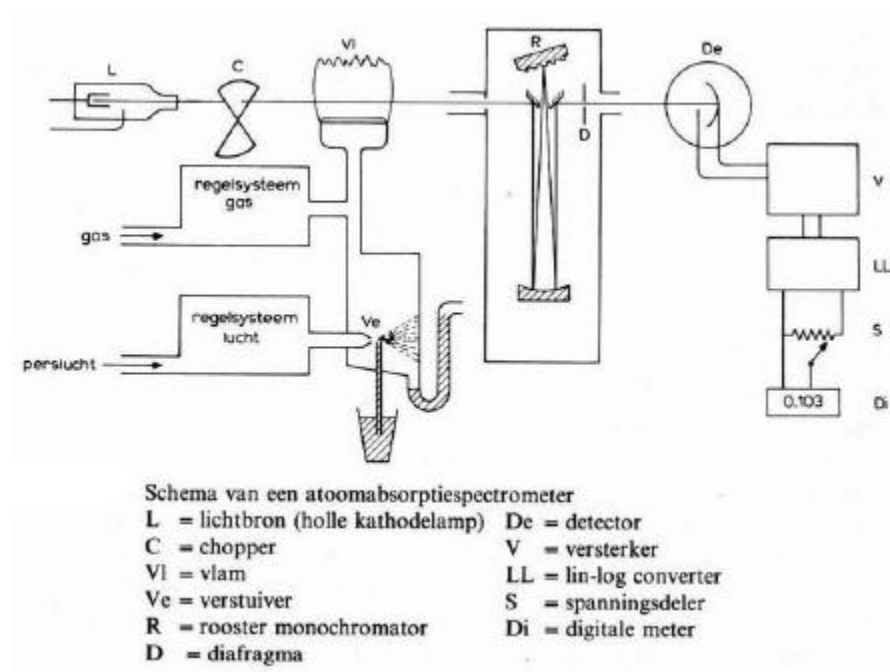
Calciumgehalte mbv AAS-techniek

In kauwgom is een klein beetje calciumcarbonaat aanwezig om de kauwgom niet hinderlijk te laten plakken in je mond. Daarom gaan we met behulp van een instrumentele analysemethode, AAS, het calciumgehalte bepalen van verschillende kauwgoms.



4.1 Wat is AAS?

Atomaire absorptiespectrometrie (AAS): Is een meettechniek gebaseerd op absorptie van elektromagnetische straling door (vrije) atomen. Vrije atomen van metaal ionen absorberen straling. Op deze eigenschap van bepaalde elementen berust de AAS. Bij deze techniek wordt het monster in een geschikte vlam omgezet in vrije atomen die in de grondtoestand verkeren. De atomen kunnen licht absorberen van een golflengte die overeenkomt met de resonantielijnen van het desbetreffende atoom. De spectrale bandbreedte van een resonantielijnen bedraagt slechts 0.005 nm. De spectrale bandbreedte van een normale spectrometer bedraagt ongeveer 0.5 nm. Dit houdt in dat slechts 1% van het op de vlam vallende licht geabsorbeerd zal worden. Dit probleem heeft men ondervangen door een stralingsbron te nemen die licht uitzendt overeenkomend met de resonantielijnen van het te bepalen element. Een dergelijke stralingsbron is de holle kathode lamp. Het in de vlam invallende licht wordt gedeeltelijk door het te bepalen element geabsorbeerd. Het restant wordt gemeten. De hoeveelheid licht is recht evenredig met de concentratie van het te bepalen element.



Afbeelding 1: schema van een AAS

4.2 Praktische uitvoering AAS

Alle oplossingen die in het AAS apparaat worden gebracht, moeten behoorlijk verdund en niet te zuur zijn;

- Dat heeft te maken met de mogelijke vervuiling en corrosie van de branderkop bij de hoge temperatuur.
- En de pH mag niet te hoog zijn.

Als regel moet de "beladingsgraad", dat is de totale ionenconcentratie in de meetoplossing, minder dan 1 massa % zijn, en moet tegelijkertijd de pH tussen 1 en 3 zijn.

4.3 Voorschrift voor bepaling calciumgehalte via AAS

Bepaal op de analytische balans de massa van een half stukje kauwgom. Ga daarna de kauwgomp oplossen in zoutzuur.

Voorschrift oplossen van kauwgom in zoutzuur:

- Voeg een half kauwgompje toe aan 15 mL geconcentreerd zoutzuur.
- Verwarm het bekglas op een kookplaatje tot 90 graden.
- Als alles opgelost is, filtreer je de vloeistof in een maatkolf van 100 mL.
- Vul de maatkolf aan.

Bereiding standaardreeks voor de calibratielij:

Elke ijk-oplossing moet een pH hebben tussen 1 en 3.

Er moet 1% KCl-oplossing worden toegevoegd.

Weeg 0,4 gram calciumcarbonaat af en doe dit in een bekglas van 250 mL. Voeg aan de vaste stof 40 mL 4M HNO₃ toe.

Als alles heeft gereageerd dan overbrengen naar een maatkolf van 1 Liter. Dit is je voorraad-oplossing.

Hieruit maak je de ijkreeks:

Nr.:	mL voorraad oplossing	mL 1% KCl
1	1	5
2	2	5
3	3	5
4	4	5
5	5	5
6	6	5

Vul de maatkolven aan.

De metingen:

Volg de aanwijzingen van het bedieningsvoorschrift van het AAS apparaat op om het apparaat in te stellen. Ter controle moet er ook een Ca-referentieoplossing gemeten worden. Deze kan onverdund gebruikt worden. Meet achtereenvolgens de standaarden, de monsters, en de referentie Ca-oplossing door.

Golflengte resonantielij van Ca is 422.7 nm

Bijlage 1;

Welke stoffen zitten in kauwgom volgens de verpakking?

*AH Peppermint kauwgom**

- Zoetstoffen: 34% xylitol, sorbitol, mannitol, malitolstroop, aspartaam, acesulfaam-K
- Gom
- Stabilisator (Arabische gom)
- Aroma's
- Kleurstof E171 (titaandioxide)
- Glansmiddel (carnaubawas)

*Sportlife Smashmint**

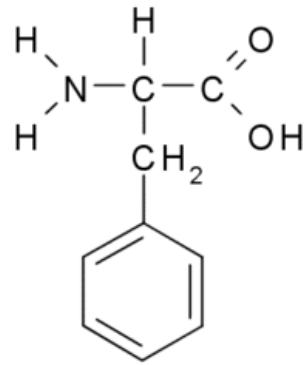
- Zoetstoffen: sorbitol, xylitol 16,5%, mannitol, malitolstroop, aspartaam, acesulfaam-K
- Gombasis (bevat soja)
- Aroma's
- Stabilisator E422
- Kleurstof E171 (titaandioxide)
- Glansmiddel (carnaubawas)

*Stimerol original**

- Zoetstoffen: xylitol, sorbitol, mannitol, malitolstroop, aspartaam, acesulfaam-K
- Gom
- Vulmiddel E170 (=calciumcarbonaat)
- Aroma's
- Drop extract
- Verdikkingsmiddel E414 (=Arabische gom)
- Emulgator: lecithine van zonnebloem
- Kleurstof E171 (titaandioxide)
- Glansmiddel E903 (=carnabauwas)
- Antioxydant E321 (=BHT=butylhydroxytolueen)

*Xylifresh Menthol Ice**

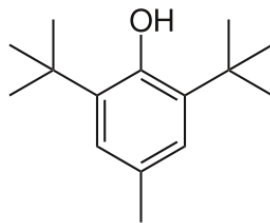
- Zoetstoffen 63%: xylitol 99,9%, aspartaam 0,1%
- Gombasis (bevat soja)
- Aroma's
- Dicalciumfosfaat 1,4%
- Stabilisator (glycerol)
- Kleurstoffen E141, E171
- Glansmiddel E903 (=carnaubawas)
- Groene thee extract 0,1%



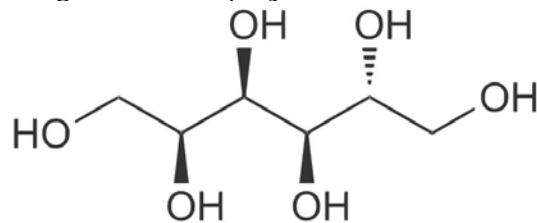
* Alle soorten bevat een bron van fenylalanine

Eigenschappen van bestanddelen van kauwgom;

- Antioxydant E321 (=BHT=butylhydroxytolueen):
Goed oplosbaar in aceton, methanol, ethanol en benzeen, maar onoplosbaar in water!

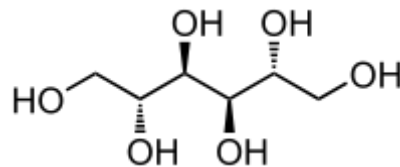


- Glansmiddel E903 (=carnaubawas)
Onoplosbaar in water, ethanol
- E976 Xylitol is een polyol
Goed oplosbaar in water slecht in ethanol. Het oplossen in water is endotherm. Meer dan een halve gram xylitol per kilo lichaamsgewicht per dag kan laxerend werken.
- E420 D-Sorbitol of D-glucitol, een polyalcohol

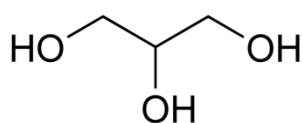


Goed oplosbaar in water en warme ethanol, slecht oplosbaar in organische oplosmiddelen.

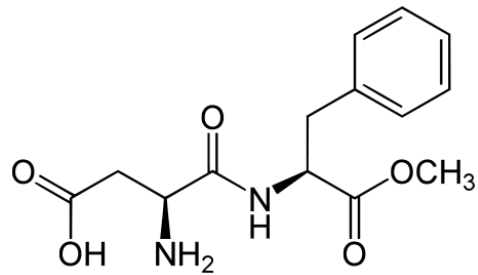
- E421 Mannitol is een polyol
(LD50 (ratten) (oraal) 1350 mg/kg)



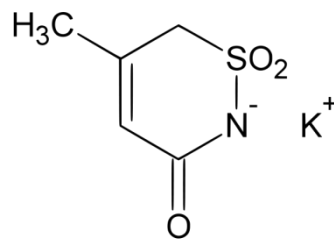
- E422 Glycerol



- E951 Aspartaam
Oplosbaar in water



- E950 Acesulfaam-K
Goed oplosbaar in water



- E171 Titaandioxide/Titaan(IV)oxide
Onoplosbaar in water
- E414 Arabische gom
- E341 Dicalciumfosfaat