

同時檢測糖精及甜精之現行方法比較

陳靜香、陳鴻章

E-mail: 9300051@mail.dyu.edu.tw

摘要

人工甘味劑中糖精及甜精二者混用具加乘作用之優點，故於食品中二者常廣泛地併用，尤以休閒食品為最，加上WTO市場開放，此類產品品質良莠不齊，因此急需快速、簡便、準確之方法，以供日常例行工作分析使用。但目前中國國家標準方法（CNS總號10950類號N6191：1984）無法同時使用一種儀器檢定二者，使得該檢驗方法耗時費力。本研究之目的為探討不同檢體前處理與萃取法之靈敏度及比較可同時檢測食品中糖精、甜精之現行方法。探討二種檢體前處理與萃取法之靈敏度。結果顯示檢測糖精時浸泡（89.6%）與透析（94.2%）之檢體前處理平均回收率有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；檢測甜精時浸泡（93.7%）與透析（96.2%）無顯著差異（ $P > 0.05$ ）。無萃取直接注入與溶媒萃取之平均回收率於檢測糖精及甜精時皆有顯著差異（ $P < 0.05$ ）。經文獻整理及篩選後，發現可同時檢測糖精、甜精二者之高效率液相層析法為Choi等人（2000）的方法（以下簡稱Choi's）及英國標準方法（BS EN 1379：1997，以下簡稱BS），探討其適當分析條件並與我國中國國家標準方法（CNS總號10950類號N6191：1984）做比較。三種高效液相層析法皆以磷酸緩衝溶液與甲醇不同比例混合當移動相，於不同波長下檢測。由儀器偵測極限、方法偵測極限、回收率、重複性、線性相關係數及滯留時間等之綜合比較結果發現檢測糖精時BS方法最好，CNS方法次之，Choi's方法較差，檢測甜精時BS方法最好，Choi's方法次之，CNS方法較差。BS方法雖優於Choi's方法，但因檢測波長於200nm處不具獨特性，只能處理基質較單純的食品以免誤判。Choi's方法雖次之，但與CNS方法比較，只需更改移動相及波長即可同時檢測二者。移動相所加之離子配對劑甲基紅是一個無毒性、便宜、隨處可見的試劑。故Choi's方法具有簡便、快速、便宜、不麻煩且試劑及材料消耗少的優點，為日常例行檢驗提供一個更快速且準確的分析定量方法，縮短檢測時程及避免檢驗人員的健康受到危害。

關鍵詞：糖精；甜精；人工甘味劑；高效液相層析法；方法比較

目錄

目錄 頁次 封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vi 誌謝 viii 目錄 ix 圖目錄 xii 表目錄 xiv 第壹章、前言 1 第貳章、文獻回顧 3 第一節、甜味劑之簡介 3 一、糖精、甜精之理化特性 5 二、糖精、甜精對人體的危害 7 三、糖精、甜精的衛生安全情形 8 第二節、糖精、甜精之測定 10 一、分光光度法 12 二、薄層層析法 12 三、毛細管電泳法 12 四、原子吸收光譜法 14 五、氣相層析法 14 六、離子層析法 19 七、高效液相層析法 19 第三節、重複試驗與偵測極限 30 一、重複試驗 30 二、偵測極限 32 第參章、材料與方法 35 第一節、實驗材料 35 一、標準物質 35 二、溶劑與試藥 35 三、儀器裝備與設置 36 四、器具與材料 36 五、樣品 37 第二節、實驗方法 37 一、檢體處理 37 二、萃取 41 三、定量 42 四、空白實驗 45 五、重複試驗 45 六、添加回收試驗 45 七、偵測極限 46 八、市售食品含量調查 46 九、統計 46 第肆章、結果與討論 47 第一節、高效率液相層析之探討 47 一、檢測波長 47 二、移動相 47 三、標準曲線 59 四、樣品前處理 65 五、偵測極限 69 六、添加回收試驗 72 七、重複試驗 76 第二節、綜合比較 78 第三節、市售食品含量調查 78 第伍章、結論 83 參考文獻 85 圖目錄 頁次 圖一、人工甘味劑的化學結構 6 圖二、阿斯巴甜於不同溶液中吸收光譜影響 13 圖三、毛細管電泳法分析蜜餞中添加防腐劑及甜味劑標準品之回收試驗圖 15 圖四、含咖啡因低卡可樂中甜味劑與防腐劑之毛細管電泳圖 16 圖五、甜精、醋磺內酯鉀、阿斯巴甜、糖精、及alitame之毛細管電泳分離圖 17 圖六、甜精衍生物之氣相層析圖 18 圖七、甜味劑與防腐劑標準品溶液之離子層析圖 20 圖八、利用安培及紫外光檢出器測定甜味劑之離子層析圖 21 圖九、液態甜味劑之液相層析圖 23 圖十、綜合維他命飲料中甜精之液相層析圖 24 圖十一、含甜精飲料之液相層析圖 26 圖十二、甜精衍生物之液相層析圖 27 圖十三、甜精衍生抽出物苯胺於278nm之層析圖 28 圖十四、六種甜味劑的液相層析圖 29 圖十五、甜精、糖精、阿斯巴甜之液相層析圖 31 圖十六、在不同移動相中人工甘味劑的紫外光掃描圖 48 圖十七、使用修飾後移動相之人工甘味劑標準品之液相層析圖（Choi's方法） 51 圖十八、液相層析移動相之甲醇比例對糖精HPLC滯留面積之影響（Choi's方法） 52 圖十九、液相層析移動相之甲醇比例對甜精HPLC滯留面積之影響（Choi's方法） 53 圖二十、液相層析移動相之pH值對不同人工甘味劑HPLC滯留時間之影響（Choi's方法） 55 圖二十一、人工甘味劑標準品之液相層析圖（BS方法） 57 圖二十二、蜜餞中糖精之液相層析圖（CNS方法） 58 圖二十三、甜精標準品之氣相層析圖（CNS方法） 60 圖二十四、糖精以不同方法定量之HPLC標準曲線圖 61 圖二十五、甜精以不同方法定量之HPLC or GC標準曲線圖 62 圖二十六、不同方法之標準曲線線性範圍比較 64 圖二十七、糖精以不同方法測試之儀器偵測極限 70 圖二十八、甜精以不同方法測試之儀器偵測極限 71 圖二十九、比較不同檢驗方法之流程圖（以液體檢體為例） 80 表目錄 頁次 表一、甜味劑的甜度與生化代謝反應 4 表二、人工甘味劑使用範圍及用量標準 9 表三、民國80年至91年度台灣地區抽驗食品甜味劑檢驗結果 11 表四、可同時檢測糖精、甜精二者之現行分析方法與CNS方法比較 38 表五、實驗架構 39 表六、人工甘味劑於不同偵測波長下吸光

度之變化 49 表七、液相層析移動相之甲醇比例對不同人工甜味劑HPLC 滯留時間之影響 (Choi 's方法) 54 表八、不同前處理對糖精檢測回收率之影響 66 表九、不同前處理對甜精檢測回收率之影響 67 表十、不同檢體中糖精之添加回收情形 73 表十一、不同檢體中甜精之添加回收情形 74 表十二、於不同檢體中檢測人工甜味劑之重複性 77 表十三、不同方法檢測人工甜味劑之整體比較 79 表十四、市售食品中人工甜味劑之檢測 81

參考文獻

1. 中國國家標準, 1984。CNS總號10950 類號N6191:食品中人工甜味劑檢驗法。
2. 尤心正, 許家瑞, 蔡樞庭, 1993。蜜餞中防腐劑、食品中人工甜味劑之調查報告、八十二年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙篇, pp.131-139。
3. 王有忠, 1990。食品添加物, 華香園出版社, 台北, p.303。
4. 王慧雯, 陳吉盛, 2002。以高效液相層析儀及固相萃取方法分析蜜餞中人工甜味劑 - 糖精, 標準與檢驗雜誌, 42:54-68。
5. 行政院衛生署, 1991-2002。衛生統計。
6. 行政院衛生署, 2000。食品添加物使用範圍及用量標準。
7. 何淑德, 邱麗華, 邱建華, 1995。蜜餞中防腐劑、食品中人工甜味劑之調查報告, 八十四年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙篇, pp.313。
8. 吳白玟, 鄭秋真, 周薰修, 1993。比較高效液相層析法與高效離子層析法分析食品中醋磺內酯鉀之含量, 藥物食品分析 1(4):373-383。
9. 吳白玟, 鄭秋真, 周薰修, 1995。飲料中醋磺內酯鉀、糖精、阿斯巴甜、甜精及環己機代磺醯胺酸之檢驗方法探討及含量查, 中國農業化學會誌, 33(1):37-50。
10. 沈明來, 2000。生物檢定統計法, 九州圖書文物有限公司, 台北, pp.184。
11. 林玉含, 1997。以毛細管電泳法分析蜜餞中人工甜味劑與防腐劑之研究, 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文, pp.72。
12. 邱皇文, 1986。人工甜味料安全嗎, 食品工業, 18(6):36-38。
13. 段盛秀, 1987。食品添加物-甜味劑, 食品工業, 19(7):24-35。
14. 許立峰, 1998。美國FDA核准新人工甜味料 " Acesulfame-K " 之使用, 食品工業, 20 (11) :43。
15. 黃有才, 1987。認識人工甜味, 食品工業, 19 (3) :15-17。
16. 黃春心, 1998。實驗室品質管理之理論與實務, 台灣地區各縣市衛生局檢驗室推動GLP研習會講義, 行政院藥物食品檢驗局, pp.22-24, 27。
17. 葉速卿, 1996。人工甜味劑之使用現況及檢驗分析, 檢驗月刊, 418:29-38
18. 賴明添, 1987。高效液相層析的分離原理及進行分離的原則, 食品工業, 19(6):18-28。
19. Argoudelis, C.J. 1984. Isocratic liquid chromatography method for the simultaneous determination of aspartame and other additives in soft drinks, J. Chromatogr., 303: 256-262。
20. Ashby, J. 1985. The genotoxicity of sodium saccharin and sodium chloride in relation to their cancer-promoting properties, Food Chem. Toxicol., 23: 507-519。
21. Beck, K.M., Crosby, G.A. and Furia, T.E. 1980. Nonnutritive sweeteners: Saccharin and cyclamate, and new sweeteners, In "CRC Hand book of Food Additives." 2nd ed T. E. Furia (Ed.) pp. 125-227。
22. Biemer, T.A. 1989. Analysis of saccharin, acesulfame K and sodium cyclamate by high performance ion chromatography. J. Chromatogr., 463:463-468。
23. Boyce, M., 1999. Simultaneous determination of antioxidants, preservatives and sweeteners permitted as additives in food by mixed micellar electrokinetic chromatography, J. Chromatogr. A, 847(1-2):369-375。
24. BRITISH STANDARD, 1997. BS EN 1379. Foodstuffs- Determination of cyclamate and saccharin in liquid table top sweetener preparations-Method by high performance liquid chromatography。
25. Bui, L.V. and Cooper, C. 1987. Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in food. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70(5): 892-896。
26. Cabero, C., Saurina, J. and Hernandez-Cassou, S. 1999. Flow- injectionspectrophotometric determination of cyclamate in sweetener products with sodium 1,2-naphthoquinone-4- sulfonate, Anal. Chim. Acta., 381: 307-313。
27. Casals, I., Reixach, M., Amat, J., Fuentes, M. and Serra-Majem, L. 1996. Quantification of cyclamate and cyclohexylamine in urine samples using high-performance liquid chromatography with trinitrobenzenesulfonate acid pre-column derivatization, J. Chromatogr. A, 750: 397-402。
28. Chen, Q.C. and Wang, J. 2001. Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography, J. Chromatogr. A, 937(7):57-64。
29. Chen, Q.C., Mou, S.F., Liu, K.N., Yang, Z.Y. and Ni, Z.M. 1997. Separation and determination of four artificial sweeteners and citric acid by high-performance anion-exchange chromatography, J. Chromatogr. A, 771: 135-143。
30. Choi, M.M.F., Hsu, M.Y. and Wong, S.L. 2000. Determination of cyclamate in low-calorie food by high-performance liquid chromatography with indirect visible photometry, Analyst, 125:217-220。
31. Douglas, G.C., Hu, J., Thirkill, T.L., Hovanes, K., Fuller, M. and King, B.F. 1995. Cyclohexylamine inhibits the adhesion of lymphocytic cells to human syncytiotrophoblast, Biochim. Biophys. Acta, 1266: 229-234。
32. Eng, M.Y., Calayan, C. and Talmage, J.M. 1977. Determination of sodium saccharin in chewing gum by high pressure liquid chromatography, J. Food Sci., 42(4): 1060-1061。
33. Fatibello-Filho, Orlando., Marcolino-Hunior, L.H. and Pereira, A.V., 1999, Solid-phase reactor with copper() phosphate for flow-injection spectrophotometric determination of aspartame in tabletop sweeteners, Anal. Chim. Acta, 384(2):167-174。
34. Hernando, D., Saurina, J. and Hernandez-Cassou, S., 1999, Liquid chromatographic determination of aniline in table-top sweeteners based on pre-column derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate, J. Chromatogr. A, 859(2):227-233。
35. Hussein, M.M., Jacin, H. and Rodriguez, F.B. 1976. Quantitative determination of saccharin in food products by ultraviolet spectrophotometry, J. Agric. Food Chem., 24(1): 36-40。
36. Hutteau, F., Mathlouthi, M., Portmann, M.O. and Kilcast, D. 1998. Physicochemical and psychophysical characteristics of binary mixtures of bulk and intense sweeteners, Food Chem., 63(1): 9-16。
37. Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N. and Yamada, M. 1988. Simultaneous determination of nine food additives using high-performance liquid chromatography. J.Chromatogr., 457:333-343。
38. Iop, S.C.F., Silva, R.S.F. and Beleia, A.P. 1999. Formulation and evaluation of dry dessert mix containing sweetener combinations using mixture response methodology, Food Chem., 66: 167-171。
39. Jeffrey, A.M. and Williams, G.M. 2000. Lack of DNA-damaging Activity of Five Non-nutritive Sweeteners in the Rat Hepatocyte/DNA Repair Assay, Food Chem. Toxicol. , 38: 335-338。
40. Jung, R., Kreiling, R. and Mayer, D.G. 1991. Acesulfame-K: Studies for genotoxic effects, In Acesulfame-K, ed. D.G. Mayer and F. H. Kemper, Marcel Dekker, New York, pp. 87-104。
41. Korbela, T. 1969. TLC identification of four artificial sweeteners in beverages: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52 (3

) :487-913. 42. Kreitzman, S.N.1985. Low calorie formulated foods for weight reduction and maintenance, *Cereal Foods World.*, 30: 845-847. 43. Kurihara, Y. and Nirasawa, S. 1994. Sweet, antisweet and sweetness inducing substances, *Trends Food Sci. Technol.*, 5: 37-42 44. Lawrence, J.F. 1987. Use of post column ion pair extraction with absorbance detection for the liquid chromatographic determination of cyclamate and other artificial sweeteners in diet beverages. *Analyst*, 112:879-881. 45. Lawrence, J.F. and Charbonneau, C.F. 1988. Determination of seven artificial sweeteners in diet food preparations by reverse-phase liquid chromatograph with absorbance detection, *J. Assoc. Off. Anal.Chem.*, 71(5): 934-937. 46. Lehr, M. and Schmid, W. 1991. Simple and specific HPLC procedure for determination of cyclamate in fruit juice beverages after conversion to N,N-dichlorocyclohexylamine, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 192: 335-338. 47. Lemieszek, C.K. 1978. Detection and determination of artificial sweeteners in foods. I. Detection of saccharin, cyclamate and dulcin. *Roczniki-Panstwowego-Zakladu-Higieny*, 29 (3) 271-277. 48. Nagasawa, K., Ogamo, A. and Shinozuka, T. 1975. Gas chromatographic determination of micro-amounts of cyclamates, *J. Chromatogr.*, 111: 51-56 49. Portmann, M.O. and Kilcast, D. 1996. Psychophysical characterization of new sweeteners of commercial importance for the EC food industry, *Food Chem.*, 56(3): 291-302. 50. Prodolliet, J. and Bruehlhart, M. 1993. Determination of acesulfame-K in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 76(2): 268-274. 51. Qu, F., Qi, Z., Liu, K. and Mou, S., 1999, Determination of aspartame by ion chromatography with electrochemical integrated amperometric detection, *J. Chromatogr. A*, 850(1-2):277-281. 52. Rymon, L.G.W. and Brixius, H.C. 1980. Thin-layer chromatographic detection of acesulfame, saccharin, and cyclamate, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 168: 212-213. 53. Rymon-Lipinski, G.W., von 1990. Intense sweeteners for fruit-based beverages. *Confructa Studien*, 39-45. 54. Schwedt, G. and Hauck, M. 1988. Novel HPLC procedure for cyclamate in food with pre-column derivatization, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 187: 127-129. 55. Sillman, K. and Coulston, A.M. 1991. Sugars in the diet, In N. Kretchmer and C. B. Hollenbeck (Eds.), *Sugars and sweeteners*, Boca Raton, FL: CRC Press, pp.17-35. 56. Statens, L. 1984. Detection of saccharin, cyclamate and dulcin in soft drinks, *Nordic-Committee-on-Food-Analysis-method*, 102-104. 57. Tadeshita, R. 1972 Application of column and thin layer chromatographic detection of artificial sweeteners in foods. *J. Chromatogr.*, 66 (2) :283-293. 58. Thompson, C.O., Trenerry, V.C. and Kemmery, D. 1995. (a) Determination of cyclamate in low joule foods by capillary zone electrophoresis with indirect ultraviolet detection, *J. Chromatogr. A*, 704:203-210. 59. Thompson, C.O., Trenerry, V.C. and Kemmery, D. 1995. (b) Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low joule soft drinks and other foods, *J. Chromatogr.*, 694:507-514. 60. Tyler, T.A. 1984. Liquid chromatographic determination of sodium saccharin, caffeine, aspartame, and sodium benzoate in cola beverages. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 67:745-747. 61. Veerabhadrao, M., Narayan, M.S. and Kapur, O. 1987. Reverse phase liquid chromatographic determination of some food additives. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 70:578-582. 62. Yebra, M.C. and Bermejo, P. 1998. Indirect determination of cyclamate by an on-line continuous precipitation-dissolution flow system, *Talanta*, 45: 1115-1122.