

## 食品中甜味劑之檢驗方法

### Method of Test for Sweeteners in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中醋磺內酯鉀(acesulfame potassium) 等 10 品項甜味劑(品項見附表)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
  - 2.1. 裝置：
    - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
      - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。
      - 2.1.1.2. 層析管：Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 5  $\mu\text{m}$ ，內徑 4.6 mm  $\times$  10 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 均質機(Homogenizer)。
    - 2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
    - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：可達 2200  $\times$  g 以上者。
  - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；甲酸銨採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 可達 18  $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$  以上)；醋磺內酯鉀等共 10 品項對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 容量瓶：10 mL、50 mL 及 100 mL。
    - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP 材質。
    - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22  $\mu\text{m}$ ，Nylon 材質。
  - 2.4. 試劑之調製：
    - 2.4.1. 0.01M 甲酸銨溶液：

稱取甲酸銨 6.3 g，以去離子水溶解使成 100 mL。取 10 mL，再加去離子水使成 1000 mL。
    - 2.4.2. 50% 甲醇溶液：

取甲醇 500 mL，加去離子水使成 1000 mL。
  - 2.5. 移動相溶液之調製：
    - 2.5.1. 移動相溶液 A：

取 0.01M 甲酸銨溶液與甲醇以 9:1 (v/v)比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。
    - 2.5.2. 移動相溶液 B：

取 0.01M 甲酸銨溶液與甲醇以 1:9 (v/v)比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

## 2.6. 標準溶液之調製：

取相當於環己基(代)磺醯胺酸對照用標準品及醋磺內酯鉀、糖精、阿斯巴甜、蔗糖素、新橙皮苷二氫查爾酮、甘草素、甜菊糖苷、紐甜及對位乙氧苯胺對照用標準品各約 10 mg，精確稱定，分別以 50% 甲醇溶液溶解並定容至 10 mL，作為標準原液，於 -18°C 貯存。臨用時分別量取適量標準原液混合，以 50% 甲醇溶液稀釋至 100 µg/mL，供作標準溶液。

## 2.7. 檢液之調製：

## 2.7.1. 液體檢體：

將檢體混勻後，取約 10 g，精確稱定，加入 50% 甲醇溶液混勻，並定容至 50 mL，以濾膜過濾後，作為檢液原液，取 500 µL 加入 50% 甲醇溶液 500 µL 混勻後，供作檢液。

## 2.7.2. 固體檢體：

將檢體細切後，取約 10 g，精確稱定，置於離心管中，加入 50% 甲醇溶液 20 mL，經超音波振盪 10 分鐘後，以 2200 × g 離心 10 分鐘。取上清液，殘留物再加入 50% 甲醇溶液 10 mL，重複操作 2 次，合併上清液，以 50% 甲醇溶液定容至 50 mL，經濾膜過濾後，作為檢液原液，取 500 µL 加入 50% 甲醇溶液 500 µL 混勻後，供作檢液。

## 2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體依 2.7.節調製空白檢液原液，分別量取 500 µL (a)，依序加入標準溶液 5~100 µL，再加入 50% 甲醇溶液使成 1000 µL (b)，混合均勻。依下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就各甜味劑之定量離子波峰面積，與對應之各甜味劑添加濃度，分別製作成 1~10 µg/mL 之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜測定條件<sup>(註)</sup>：

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 3.0	80 → 80	20 → 20
3.0 → 6.0	80 → 60	20 → 40
6.0 → 12.0	60 → 20	40 → 80
12.0 → 15.0	20 → 20	80 → 80
15.0 → 15.1	20 → 80	80 → 20
15.1 → 18.0	80 → 80	20 → 20

移動相流速：0.8 mL/min。

注入量：10  $\mu\text{L}$ 。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：4.5 kV。

氣簾氣體(Curtain gas)：10 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：5 psi。

霧化氣體(Gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Gas 2)：50 psi。

加熱溫度(Temperature)：450°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)如附表。

註：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

## 2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 10  $\mu\text{L}$ ，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依 2.8.節條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度<sup>(註)</sup>鑑別之，並依下列計算式求得檢體中各甜味劑之含量(g/kg)：

$$\text{檢體中各甜味劑之含量(g/kg)} = \frac{C \times V \times F}{M \times 1000}$$

C：由基質匹配檢量線求得各甜味劑之濃度( $\mu\text{g/mL}$ )

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

註：相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得( $\leq 100\%$ )。容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	$\pm 20$
> 20~50	$\pm 25$
> 10~20	$\pm 30$
$\leq 10$	$\pm 50$

附註：1. 本檢驗方法之定量極限均為 0.01 g/kg。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

附表、醋磺內酯鉀等 10 項甜味劑之多重反應偵測模式參數

分析物		離子化模式	定量離子對			定性離子對		
英文名	中文名		前驅離子( <i>m/z</i> )	去簇電壓	碰撞能量	前驅離子( <i>m/z</i> )	去簇電壓	碰撞能量
			> 產物離子( <i>m/z</i> )	(V)	(eV)	> 產物離子( <i>m/z</i> )	(V)	(eV)
Acesulfame potassium	醋磺內酯鉀	ESI <sup>-</sup>	162 > 78	-31	-40	162 > 82	-31	-25
Aspartame	阿斯巴甜	ESI <sup>+</sup>	295 > 120	32	36	295 > 180	32	22
Cyclamate	環己基(代)胺基磺酸	ESI <sup>-</sup>	178 > 80	-60	-40	178 > 95	-60	-44
Dulcin	對位乙氧苯脲	ESI <sup>+</sup>	181 > 108	48	40	181 > 136	48	20
Glycyrrhizin	甘草素	ESI <sup>-</sup>	821 > 113	-110	-79	821 > 193	-110	-50
Neotame	紐甜	ESI <sup>+</sup>	379 > 172	58	35	379 > 319	58	27
NHDC	新橙皮苷二氫查爾酮	ESI <sup>-</sup>	611 > 125	-50	-51	611 > 303	-50	-43
Saccharin	糖精	ESI <sup>-</sup>	182 > 106	-45	-24	182 > 62	-45	-27
Stevioside	甜菊糖苷	ESI <sup>-</sup>	641 > 112	-120	-72	641 > 161	-120	-61
Sucralose	蔗糖素	ESI <sup>+</sup>	414 > 199	28	26	414 > 216	28	17