

比較高效液相層析法及高效離子層析法 分析食品中醋磺內酯鉀之含量

吳白玫 鄭秋真 周薰修

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

本研究比較高效液相層析法(HPLC)及高效離子層析法(HPIC),分析飲料、糖果、布丁、烘焙食品及口香糖等五類食品中之醋磺內酯鉀(acesulfame K)。HPLC使用的移動相為0.02 M KH_2PO_4 - CH_3CN (98:2,v/v),流速為1 ml/min,管柱為Bondclone 10 C_{18} (10 μm , 300 $\times$ 3.9 mm i.d.)層析,並以紫外光228 nm為檢測波長。HPIC則以0.5 mM Na_2CO_3 溶液為流洗液,12.5 mM H_2SO_4 為再生液,流速為2 ml/min,管柱為Dionex HPIC-AG₅及Dionex HPIC-AS₅,由輸出範圍30 μs 之電傳導度檢出器檢測醋磺內酯鉀。分析所得的結果為:

1.醋磺內酯鉀200、500及1000 $\mu\text{g/g}$ 三種添加量回收試驗顯示,HPLC之回收率範圍在91.6~104.0%之間,平均回收率為98.5%,cv則為5.6%;HPIC之回收率範圍在90.9~114.0%之間,平均回收率為98.4%,cv則為5.4%;以二種分析方法所得之平均回收率,經變異數統計分析,並無顯著差異($\alpha=0.05$)。兩種分析方法相互搭配使用,更可以確認食品中醋磺內酯鉀之存在情形。

2. HPIC之最低檢出限量為0.1~1.0 $\mu\text{g/g}$,儀器之偵測極限為0.5 ng; HPIC之最低檢出限量為5.0 $\mu\text{g/g}$,儀器之偵測極限為0.1 μg 。

3.五十件市售食品均未檢測出醋磺內酯鉀,表示國內市售食品中醋磺內酯鉀之使用尚未普遍。

前 言

隨著生活品質提昇,為了享受美食及增加口感,人工甘味劑已被廣泛使用於各類食品中,醋磺內酯鉀(acesulfame potassium或acesulfame K)是一種高強度甜味劑。其發展溯自於1967年,位於德國法蘭克福的Hoechst Celanese的研究人員無意間合成發現,此種環狀結構化合物具有甜味。此甜味劑於在1988年獲得美國FDA許可,以Sunette的商品名上市,每日建議攝取量(acceptable daily intake)為每公斤體重15毫克以上⁽¹⁾。Acesulfame K是一種甜味劑,如與其他種類甜味劑合用,更具有相乘效應。pH、溫度及貯存時間,對食品中acesulfame K影響甚微。如果以乾燥的結晶狀態貯藏,可在室溫

下保存數年之久,而且在液體狀態下,即使加熱亦仍保有其味道。此外,最重要的一點是它不為人體所吸收,能以原構造排出,同時亦不會造成蛀牙^(2,3)。歐洲國家較早通過acesulfame K的使用,目前國際上亦有許多產品使用acesulfame K為甜味劑,使用範圍極廣,使用限量依各國規定及產品有不同,自未限量到乳品類200 ppm。其安全性試驗,目前為止顯示對人體還相當安全的⁽⁴⁾。我國於民國81年2月公告此種甜味劑用於多種食品中,包括瓜子、蜜餞、各式飲料、糖果、口香糖、穀類早餐、果凍及布丁等,也可使用於代糖及特殊營養食品中⁽⁵⁾。

有關acesulfame K之分析方法,自Von Rymon Lipinski及Brixius⁽⁶⁾以薄層色層分析法鑑別acesulfame K之後,利用高效液相層析法(HPLC)同時檢測包括acesulfame K等多項人工甘味劑,成

為許多學者致力研究的方向^(7,8)。Lawrence^(9,10)連接離子配對萃取後置管(ion-pair-post-column extractor)和液相層析管,檢測低熱量飲料中之acesulfame K及其他幾種人工甘味劑。Biemer⁽¹¹⁾利用acesulfame K於水溶液中離子化的特性,以離子層析法(ion chromatography)分析acesulfame K。此外尚有電泳分析方法(isotachophoretic method)acesulfame K⁽¹²⁾。

綜合以上各種分析方法,評估儀器設備配置狀況及操作方法之簡便性,本研究比較常用之HPLC配合紫外光檢出器,及利用可節省溶劑費用的高效離子層析法(High Performance Ion Chromatography,以下簡稱HPIC)連接電傳導度檢出器,分別檢測食品中acesulfame K。另外,為了瞭解國內市售食品中醋磺內酯鉀之使用及標示情形,本研究並對50件市售食品進行初步醋磺內酯鉀含量調查。

材料與方法

一、檢體來源

本研究所分析之檢體,係自80年10月至81年6月間,購自台北地區超級市場或商店,其中飲料11件,糖果13件,果凍、果醬5件,口香糖7件,布丁2件,蜜餞4件,餐桌上使用代糖4件,餅乾4件,共計50件。

二、試藥

藥用酒精(alcohol)為臺灣省菸酒公賣局製造。乙腈(acetonitrile)採用液相層析級,磷酸二氫鉀(potassium dihydrogen phosphate)、碳酸鈉(sodium carbonate)、碳酸氫鈉(sodium bicarbonate)、氯仿(chloroform)及冰醋酸(glacial acetic acid)均採用試藥特級,西德E. Merck公司製品。醋磺內酯鉀(acesulfame K)標準品係由西德Hoechst公司產品。去離子水(deionized water)係經Milli-QSP.純水系統製造取得。

三、儀器與設備

(一)高效液相層析儀:

包括液相層析儀(Water 600E型)為美國Millipore公司製造,檢出器(Shimadzu SPD-6AV型)及積分儀(Shimadzu CR4A型)均為日本Shimadzu公司製品。

(二)高效離子層析儀:

離子層析儀:Dionex Module/sp Cms-1型及

檢出器(Dionex CDM-2型)均為美國Dionex公司製造,積分儀(Shimadzu CR4A型)則為日本Shimadzu公司產品。

(三)層析管:

液相層析管採用Bondclone 10 C₁₈ (10 μ m, 300 $\times$ 3.9 mm i.d.)為美國Phenomenex公司出品。離子層析管則包括Dionex HPIC-AS₅分離管及Dionex HPIC-AG₅預置管,均為美國Dionex公司製造。

(四)分光光度計:

為Milton ROV Spectronic 3000型係美國Milton公司出品。

四、標準溶液之配製

精確稱取acesulfame K之對照標準品1 g,以去離子水定容至1000 ml,配成1 mg/ml之標準原液,再以去離子水及酒精分別稀釋配製成10、25、50、100及200 μ g/ml之標準水溶液及標準酒精溶液。

五、移動相溶液(mobile phase)之製備

移動相A係取54.4 g之磷酸二氫鉀以去離子水溶解定容至1000 ml,配合0.4 M之移動相標準原液,再取100 ml以去離子稀釋定容至2 l,配成0.02 M磷酸二氫鉀溶液,使用0.45 μ m濾膜過濾及去除氣泡後作為移動相A。移動相B為乙腈經上述同樣之過濾及去除氣泡法處理。移動相A及移動相B以(98 : 2, v/v)之比例混合均勻。

六、流液(eluent)之製備

取4.2396 g碳酸鈉以去離子水溶解定容至1 l,配成40 mM之流洗液標準原液,再取25 ml以去離子水稀釋至2 l,配製成0.5 mM之碳酸鈉溶液,經上述過濾方式及超音波震盪去除氣泡處理作為流洗液。

七、再生液(regenerant)之製備

取1.2 ml硫酸,以去離子水稀釋至2 l配成12.5 mM之稀硫酸溶液,經超音波震盪去除氣泡處理後作為再生液。

八、檢液之製備

依衛生署公告之acesulfame K使用範圍以及食物成份之差異,將檢體分為液狀檢體(如各式飲料及濃縮果漿),一般食品檢體(如糖果、蜜餞、果凍、果醬、代糖及粉末飲料等),含蛋白質高檢體(如布丁),含澱粉類高檢體(如餅乾及穀類早餐)及

口香糖檢體等五類,依檢體類別採用不同檢液製備方法。

(一)直接分析檢液

1.液狀檢體

取檢體1 ml以去離子水稀釋定容至10 ml,經0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。碳酸飲料類則先經過超音波震盪去氣泡後再取樣。

2.一般食品檢體

取檢體2~5 g加去離子水約至40 ml,經過超音波震盪溶解過濾後,定容至50 ml,經0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。

(二)萃取前處理

1.含蛋白質高檢體及含澱粉類高檢體

(1).乙酸乙酯萃取法

參照Veerabhadrrao⁽⁸⁾等之方法,取檢體2~5 g加去離子水50 ml及HCl 10 ml,用乙酸乙酯40 ml萃取3次,收集有機層濃縮蒸乾,加0.1N KOH 1 ml,以去離子水稀釋定容至50 ml,經0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。

(2).酒精萃取法

參考Lawrence及Charbonneau⁽¹⁰⁾對布丁及甜點類中人工甘味劑之前處理方法。取檢體2~5 g加酒精50 ml,醋酸0.5 ml,經激烈震盪20分鐘,靜置半小時,經Advantec 5A濾紙過濾,定容至100 ml,經0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。

2.口香糖檢體

參照Biemr⁽¹¹⁾處理口香糖檢體之方法。取經過粗碎之檢體2~5 g於分液漏斗中,加25 ml氯仿及40 ml去離子水,經激烈震盪20分鐘,靜置半小時,待分層後上層液取出,下層混濁物再加40 ml去離子水重覆上述步驟,收集上層液經Advantec 5A濾紙過濾,定容至100 ml再經0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。

九、鑑別及定量分析

(一)高效能液相層析及高效能離子層析條件

將經前處理之檢液,分別利用高效能液相層析儀及高效能離子層析儀進行分析。液相層析條件係以 Bondclone 10 C₁₈ 為液相層析管,0.02M KH₂PO₄-CH₃CN (98 : 2, v/v)為移動相溶液,流速係1 ml/min,注入量為10 μl ,檢出器波長為紫外光228 nm,積分儀的感度為2⁶ mv/full scale之情況下分析。離子層析條件則用Dionex HPIC-AS₅分離管及Dionex HPIC-AG₅預置管作為分離管柱,0.5 mM Na₂CO₃溶液為流洗液(eluent),流速2 ml/min,12.5 mM H₂SO₄為再生液(regenrant),Dionex

Anion Micromembrane Suppressor為抑制器,注入量為50 μl ,輸出範圍30 μs 之電傳導度檢出器檢測,積分儀的感度為2² mv/full scale之條件下進行分析。

(二)標準曲線之製作

取配製之acesulfame K標準水溶液及標準酒精溶液,分別為10、25、50、100 ppm各種濃度,精取各標準溶液10 μl ,依次注入HPLC,以及50 μl 注入HPIC每個濃度作三重覆,由波峰所得平均面積對標準溶液之濃度作圖,繪製成標準曲線。

(三)鑑別試驗及含量測定

分別精確量取檢液及準溶液10 μl 注入HPLC及各50 μl 注入HPIC,就各同一種分析方法所得之檢液波峰之滯留時間,分別與標準溶液比較鑑別。並由同一種分析方法所得檢液之波峰面積,與標準曲線比較,求出acesulfame K之濃度,再依公式換算成acesulfame K的含量。

$$\text{acesulfame K}(\mu\text{g/g}) = \frac{V \times C}{W} \times F$$

式中V: 檢液體積(ml)

C: 檢液中含acesulfame K之濃度($\mu\text{g/ml}$)

W: 檢體重量(g)

F: 稀釋倍數

十、添加回收試驗

上述五類食品中各選乙件檢體,分別是可樂、糖果、布丁、餅乾及口香糖,依前述各類檢體之檢液製作方法,個別添加acesulfame K標準溶液於五類檢體中,使各檢體成為每克檢體含200、500及1000 μg acesulfame K三種添加量之各類檢液,備以進行添加回收試驗。每個添加量三重覆,並作空白試驗對照。

十一、統計方法

利用變異數統計分析方法($\alpha=0.05$),探討以HPLC及HPIC兩種檢測方法,對飲料、糖果、布丁、烘培食品及口香糖等五類食品中之acesulfame K之平均回收率,是否有顯著差別。

結果與討論

一、高效液相層析條件之探討

經文獻整理及篩選後,初步採磷二氫鉀及乙腈混合液為移動相,C₁₈為層析分離管柱,以UV227 nm檢測acesulfame K。經初步試驗,將acesulfame K於0.02 M磷酸二氫鉀和乙腈(98 : 2,v/v)溶液,經

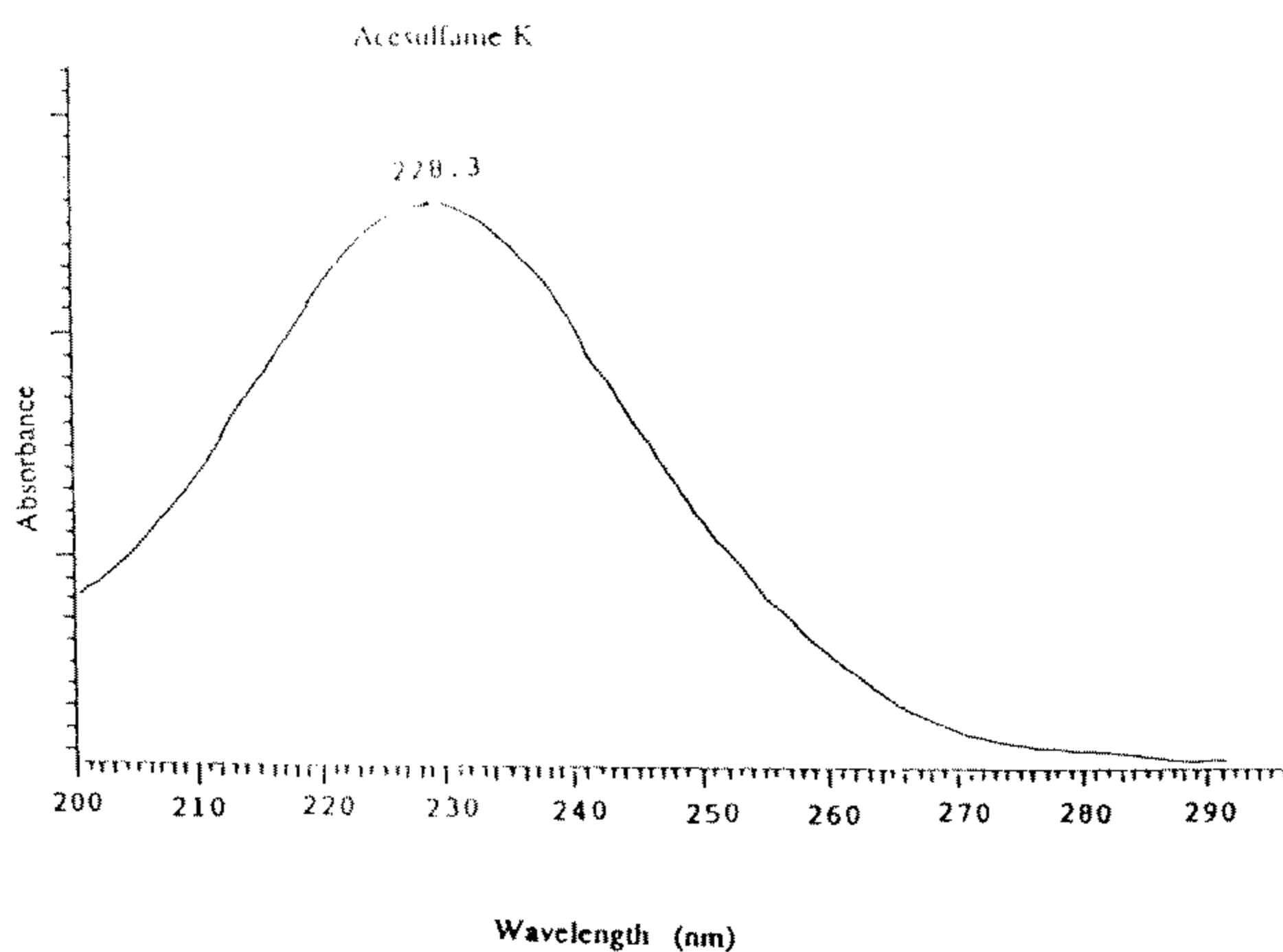


Figure 1. UV scanning spectrum of acesulfame K in 0.02 M $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-CH}_3\text{CN}$ (98 : 2,v/v)

分光光度計測得之最大吸收波長為228 nm(圖一),故本實驗之偵測波長採用228 nm。再將數種檢體添加acesulfame K直接進行分析所得之分離效果,以0.02 M磷酸二氫鉀及乙腈(98 : 2,v/v)為移動相溶液,流速是1 ml/min,經Bondclone 10 C_{18} (10 μm , 300 $\times$ 3.9 mm i.d.)層析,acesulfame K之滯留時間為9.9分鐘左右(圖二)。

二、高效離子層析條件之探討

(一)高效離子層析管之選擇

經初步試驗,比較acesulfame K在相同流洗液(4.4 mM Na_2CO_3 及5.6 mM NaHCO_3 等體積混合)沖提條件之下,控制流速,分別經Dionex HPIC-AS₄及Dionex HPIC-AS₅分離管柱分析,其滯留時間均在8分鐘左右時,以Dionex HPIC-AS₄分析之理論板數小於Dionex HPIC-AS₅所得結果,且經前者分析之不對稱性大於用後者檢測結果,所得之層析圖施滯現象(tailing)嚴重(表一),故本實驗採用Dionex HPIC-AS₅作為分析用分離管柱。

(二)高效離子層析流洗液之選擇

用含acesulfame K及saccharin之溶液,以4.4 mM Na_2CO_3 及5.6 mM NaHCO_3 之流洗液(1 : 1, v/v),流速1.1 ml/min和0.5 mM Na_2CO_3 流洗液,

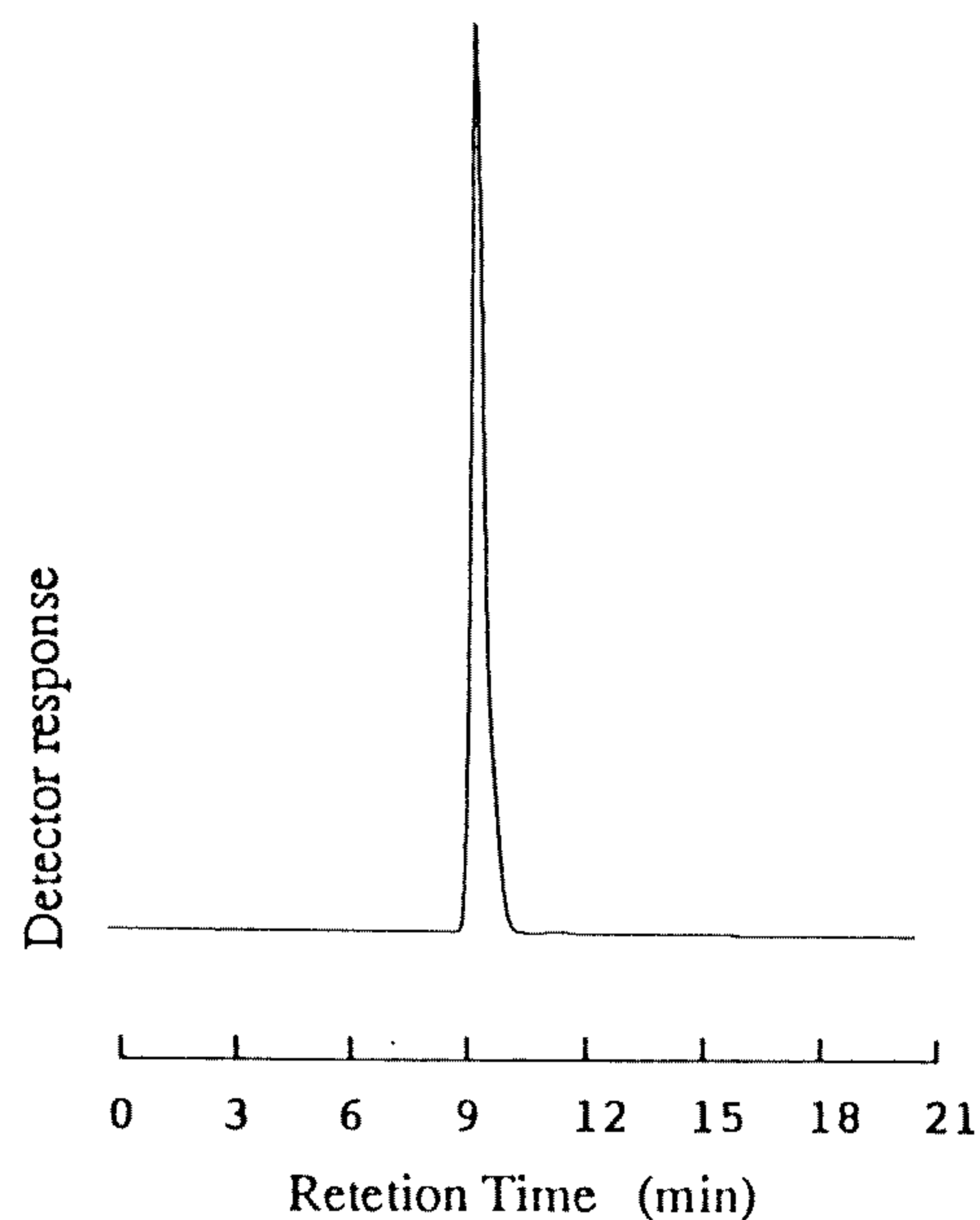


Figure 2. HPLC chromatogram of acesulfame K. Column : Bondclone 10 C_{18} (10 μm , 300 $\times$ 3.9 mm i.d.); mobile phase : 0.02 M $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-CH}_3\text{CN}$ (98 : 2,v/v); flow rate : 1.0 ml/min; injection volume : 10 μl ; detector : UV 228 nm; attenuation : 2^6 (mv/full scale).

流速2.0 ml/min之分析條件相比較,所得層析結果相近(圖三),考慮配製之便利性,故採用0.5 mM Na_2CO_3 溶液為流洗液。此外比較濃度為1.0、0.5及0.38 mM之 Na_2CO_3 ,以Dionex HPIC-AS₅分析acesulfame K之滯留時間分別為5.5、7.9、14.6分鐘,其 K' 值(capacity factor)各為2.7、7.0及13.5。一般 K' 值應在1至10之間為佳⁽¹³⁾,故採以0.5 mM Na_2CO_3 作為流洗液。

三、標準曲線之製作

(一)高效液相層析法之標準曲線

圖四所示為依前述高效液相層析法之標準曲線製作方法所得之標準曲線。acesulfame K標準水溶液曲線其線性迴歸係數為0.9994,acesulfame K標準酒精溶液之標準曲線其線性迴歸係數為0.9991,二者線性頗佳。

(二)高效離子層析法之標準曲線

圖五所示為依前述高效離子層析法之標準曲線製作方法所得之標準曲線。acesulfame K之標準水溶液之標準曲線其線性迴歸係數為0.9994,acesulfame K標準酒精溶液之標準曲線,其線性迴歸係數為0.9966,二者線性也均良好。

四、樣品前處理之探討

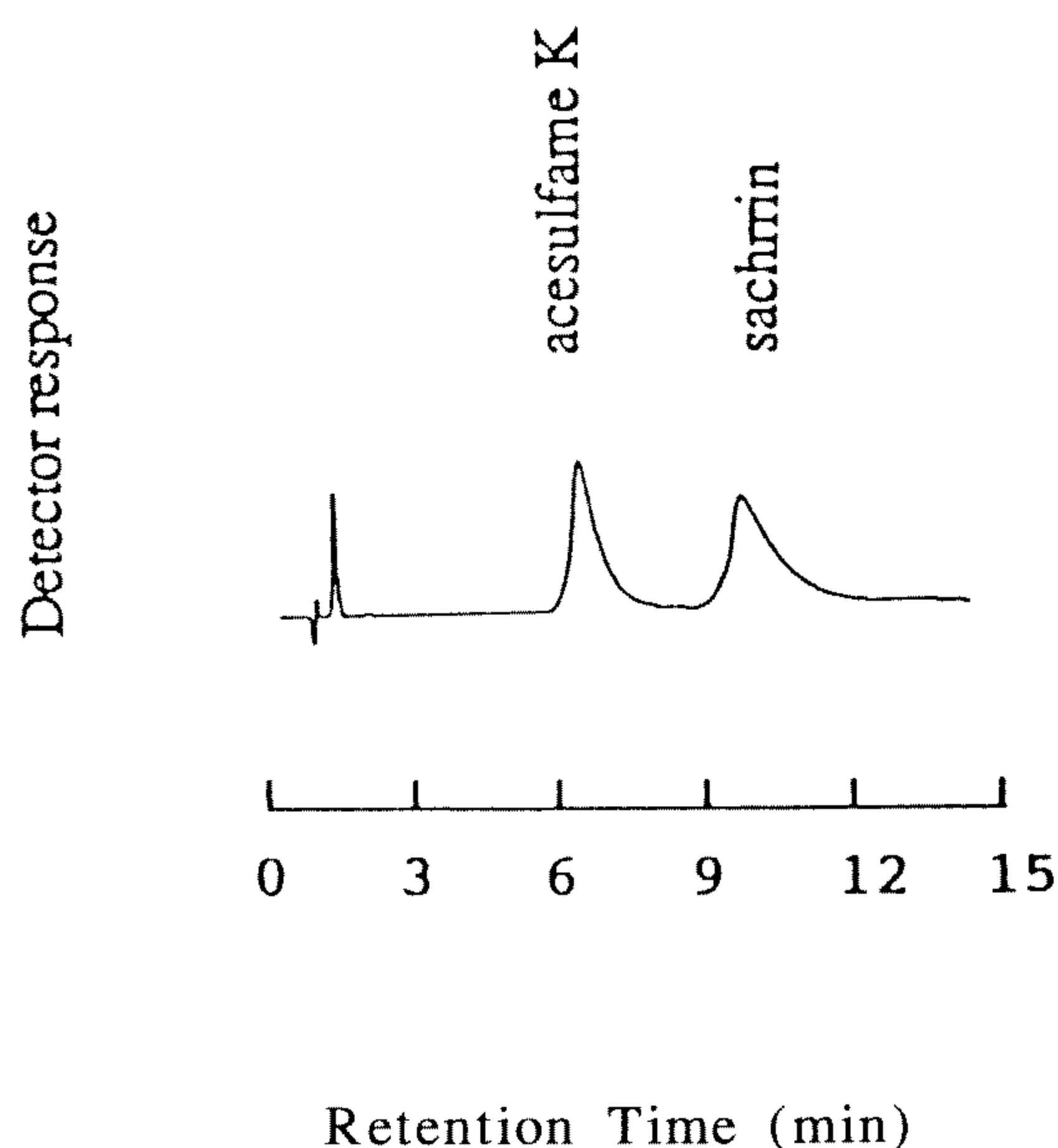


Figure 3. HPIC chromatogram of acesulfame K and saccharin. Separation column : Dionex HPIC-AS₅; guard column : Dionex HPIC AG₅; eluent : 0.5 mM Na₂CO₃; flow rate : 2.0 ml/min; regenerant : 1.2 mM H₂SO₄; injection volume : 50 μ l; detector : suppressed conductivity; attenuation : 2²(mv/full scale).

(一)直接分析和經萃取處理之比較

就液狀檢體類(如飲料等)及一般食品檢體(如糖果、蜜餞等)而言,分別添加acesulfame K標準溶液於可樂及糖果檢體中,使其成為每克檢體含500 μ g acesulfame K,以直接分析或經乙酸乙酯萃取,再各別經HPLC及HPIC分析,比較不同前處理及二種分析方法之回收情形如表二所示。除了HPIC測得可樂直接分析之回收率高於乙酸乙酯法的分析結果外,以HPLC測得回收率顯得略高於HPIC所得結果。就兩種前處理之比較,經乙酸乙酯萃取後分析值較能扣除基質影響而回收率較高。但概括而言,直接分析之回收率在90.9~103%之間,仍不失為一種快速分析的方法。

(二)酒精萃取法及乙酸乙酯萃取法之比較

就餅乾、布丁等含澱粉及蛋白質類,易吸水膨潤不適加水稀釋直接分析者,比較酒精萃取法及乙酸乙酯萃取法,分別添加acesulfame K標準溶液,使之成為每克檢體含500 μ g acesulfame K,所得回收率如表二。無論以HPLC或HPIC測得之回收率,均以酒精萃取法為佳,經酒精萃取之回收率94.8

~102.5%。反觀以乙酸乙酯萃取者,無論是布丁或餅乾經HPLC分析之回收率低於77%,可能由於布丁及餅乾類檢體於乙酸乙酯及水溶液中易乳化而不易分層,影響萃取效果。acesulfame K可於酒精且酒精對蛋白質及澱粉不致造成膨潤現象,又易使蛋白質變性沈澱,不至造成分離上的困難,故酒精萃取方法作為蛋白質及澱粉類之前處理為佳。至於經乙酸乙酯萃取後之HPIC分析效果不佳,在進一步探討檢液和pH關係時發現經乙酸乙酯萃取後之檢液pH值小於2者,在HPIC分析中干擾極大而未檢出acesulfame K以含500 ppm acesulfame K之水溶液為例,當經乙酸乙酯萃取之檢液其pH值於3左右者回收率可達97.5%,但處理後之檢液其pH值小於1.6時則受干擾而未檢出,故可知pH值對HPIC分析影響甚巨有待深入探討(表三)。

(三)口香糖類

因口香糖之基質為膠類,不易均質粉碎亦不溶於水及酒精溶劑等,故加氯仿溶解後以水萃取acesulfame K。添加acesulfame K於口香糖中使之成為每克口香糖含500 μ g acesulfame K,依前述口香糖類檢體處理方法,經HPLC分析所得回收率可達99.7%(cv,3.4%),經HPIC分析所得回收率可達99.7%(cv,0.9%)。

綜合以結果所示,飲料類(如可樂)及糖果類,可直接稀釋後分析,餅乾及布丁類則以酒精萃取為佳,口香糖則以氯仿溶解後以水萃取,作為以下繼續討論各項檢體之前處理方式。

五、添加回收試驗

於前述實驗方法,使各檢體成為每克檢體含acesulfame K 200、500、1000 μ g三種添加量之各檢液備以進行添加回收試驗。各類檢體添加acesulfame K之HPLC及HPIC層析圖譜如六至圖七所示。就檢體分類各別回收率而言,可樂經HPLC分析之回收率為90.9~100.9%(cv,4.0~7.1%);經HPIC所得結果是93.3~110.4%(cv,1.9~8.2%)。糖果經HPLC檢驗之回收率為95.6~98.1%(cv,0.6~1.7%)經HPIC所得結果為91.6~98.1%(cv,2.7~3.9%)。餅乾以HPLC檢測之回收率是93.3~100.6%(cv,2.6~8.2%);以HPIC所得結果為93.1~101.2%(cv,0.9~12.0%)。布丁經HPLC檢驗之回收率在101.4~114.0%(cv,5.8~10.2%)之間,經HPIC所得結果在94.7~104.1%(cv,6.6~7.2%)之間。因本研究乃是針對acesulfame K探討分析條件,較Lawrence及Charbonneau⁽¹⁰⁾以HPLC同時分析添加多種人工甘味劑(各10 mg/g)

Table 1. Plate numbers (N) and asymmetry factors (a) of acesulfame K in 2 analytical conditions.

Analytical condition	Plate number (N)	Asymmetry factor (a)
System A ^a	6628.2	4.0
System B ^b	8600.8	1.3

^asystem A-column : Dionex HPIC-AG₄ and HPIC-AS₄; eluent : 4.4 mM Na₂CO₃ and 5.6 mM NaHCO₃ (1 : 1,v/v); flow rate : 1.8 ml/min.

^bsystem B-column : Dionex HPIC-AG₅ and HPIC-AS₅; eluent : 4.4 mM Na₂CO₃ and 5.6 mM NaHCO₃ (1 : 1,v/v); flow rate : 1.1 ml/min.

Table 2. Comparison among the recoveries of various food products with 500 ppm acesulfame K using HPLC and HPIC by different pretreatments.

Food Item	Pretreatment method	Recovery ^a (%)	
		HPLC	HPIC
Cola	Direct injection	90.9(4.0%)	103.0(1.9%)
	Ethylacetate extraction	96.9(5.7%)	93.0(7.5%)
Candy	Direct injection	93.0(0.6%)	91.6(3.9%)
	Ethylacetate extraction	94.8(4.5%)	91.7(9.4%)
Dessert	Ethanol extraction	100.6(7.5%)	101.2(3.4%)
	Ethylacetate extraction	61.7(16.2%)	--- ^b
Pudding	Ethanol extraction	102.5(7.9%)	94.7(6.6%)
	Ethylacetate extraction	76.7(13.3%)	--- ^b

^aAverage of three determinations. The values in the parentheses as coefficient of variance (cv).

^bNot detected.

Table 3. pH and recoveries of acesulfame K in various food products by ethylacetate extraction.

Food item	pH ^a	Recovery ^b (%)
Cola ^b	2.16~3.83	96.9(5.7%)
Candy ^b	2.09~2.64	94.8(4.8%)
Dessert ^c	1.30~1.57	--- ^d
Pudding ^c	0.24~0.58	--- ^d
500 ppm acesulfame K ^b	3.20~3.54	91.9(8.9%)
500 ppm acesulfame K ^b	1.50~1.64	--- ^d

^aAverage of three determinations The values in the parentheses are coefficient of variance (cv).

^bAcesulfame K in water.

^cAcesulfame K in alcohol.

^dNot detected.

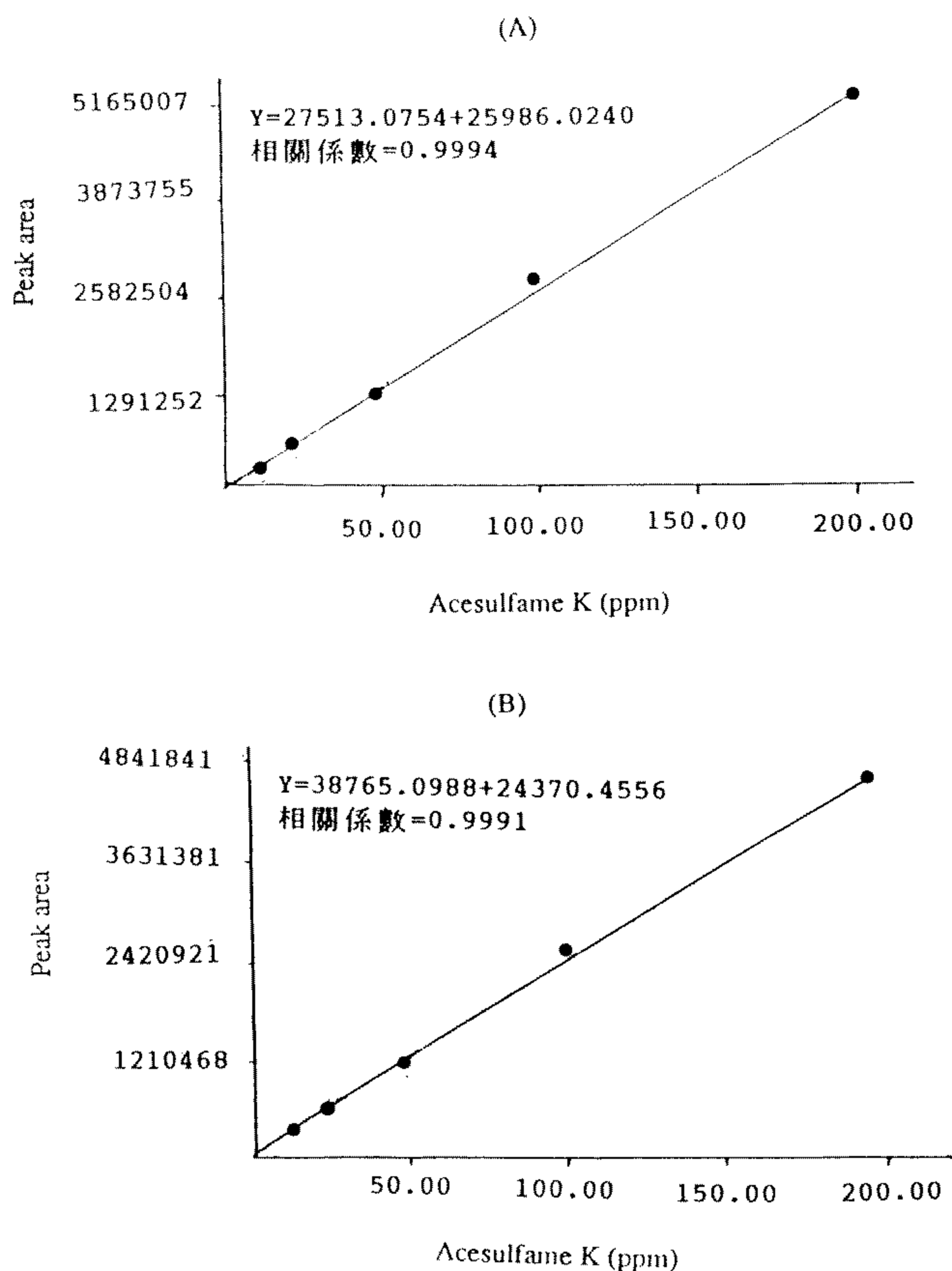


Figure 4. Calibration curve of acesulfame K analyzed by HPLC : (A) in water, (B) in alcohol.

於巧克力布丁,其acesulfame K回收率為76%(cv, 8.1%)者,高出甚多。口香糖經HPLC分析之回收率為94.7~99.7%(cv, 1.1~3.6%);以HPIC所得結果是95.5~104.4%(cv, 0.9~3.7%),和 Biemer⁽¹¹⁾以HPIC分析口香糖中acesulfame K(未標示添加濃度)所得回收率為99.2~103.6%相近(表四)。

六、儀器偵測極限及方法檢出限量

將acesulfame K各種濃度之標準之溶液及標準酒精溶液,分別依上述HPLC及HPIC條件進行分析探討。經測試結果,以三倍於acesulfame K和雜訊之積分面積比的最小濃度視為儀器偵測極限,則acesulfame K在HPLC分析條件下之儀器偵測極限為0.5 ng,於HPIC分析條件下之儀器偵測極限為0.1 µg。

再將acesulfame K分別以各種濃度添加於可樂、糖果、布丁、餅乾及口香糖中,依照前述檢液製備步驟並經HPLC及HPIC進行分析探討。測試結果,acesulfame K由HPLC方法檢測所得檢出限量

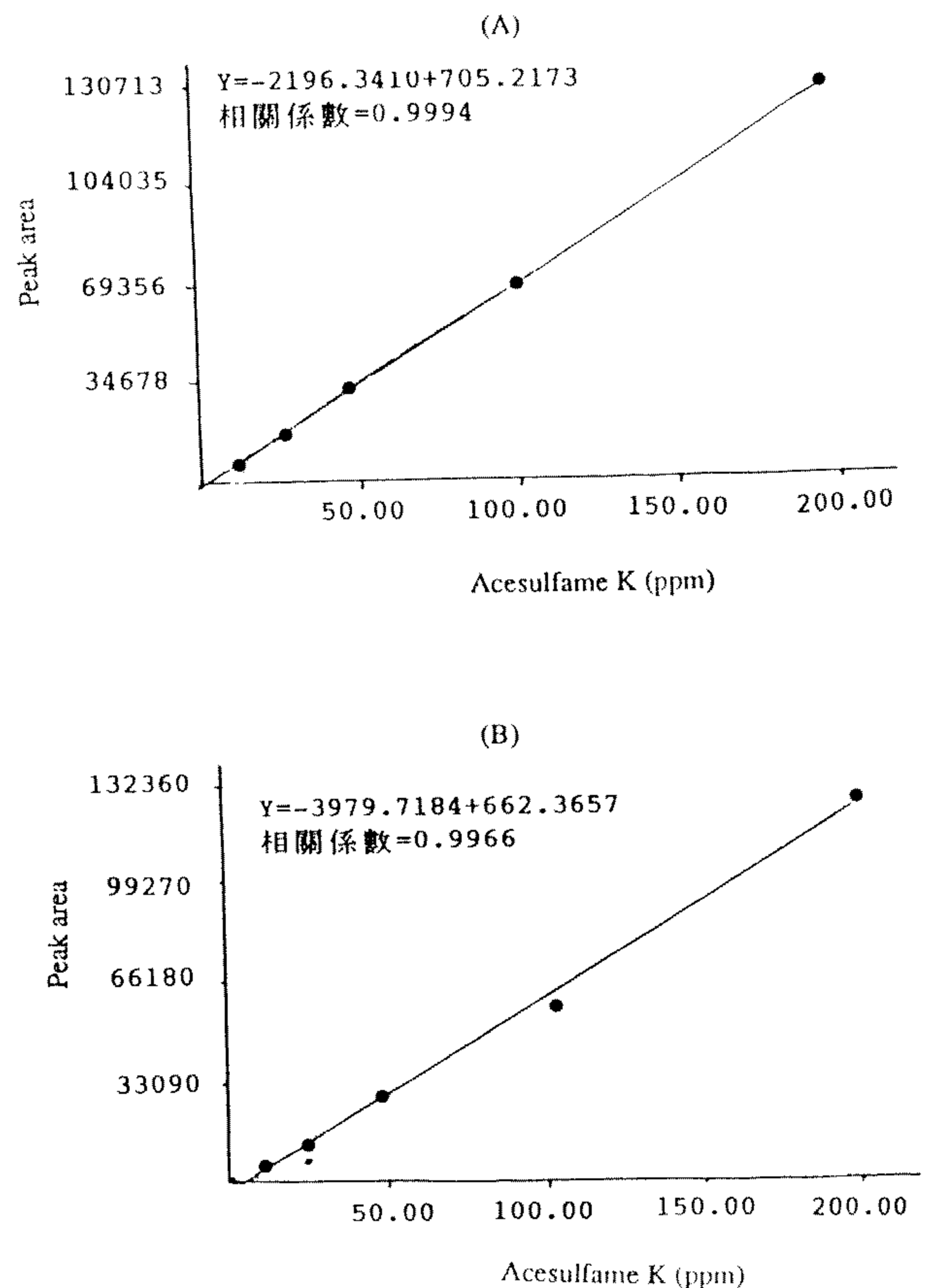


Figure 5. Calibration curve of acesulfame K analyzed by HPIC : (A) in water, (B) in alcohol.

分別為可樂0.2 µg/g,糖果1 µg/g,布丁0.1 µg/g,餅乾0.1 µg/g及口香糖0.1 µg/g。Acesulfame K經HPIC方法測得上述幾種檢體之檢出限量均為5 µg/g(表四)。

七、液相層析及離子層析之比較

比較依上述各種前處理,對成為每克檢體含200、500及1000 µg等acesulfame K三種添加量之五類檢液之添加回收試驗,以HPLC分析之平均回收率為98.5%(cv, 5.6%)經HPIC分析之平均回收率為98.4%(cv, 5.4%),二者之平均回收率在99%範圍內,於統計上並無顯著差異(表五)。雖然就靈敏度而言,HPLC方法中紫外光228 nm波長所得之acesulfame K儀器偵測極限(0.5 ng),較HPIC方法中電傳導度檢出器對acesulfame K儀器偵測極限所得值(0.1 µg)高出許多,而HPIC可節省溶劑費用,使用簡單便利,仍不失為可被採用的分析方法。兩種分析方法相互搭配使用,更可以確認食品中acesulfame K之存在情形。

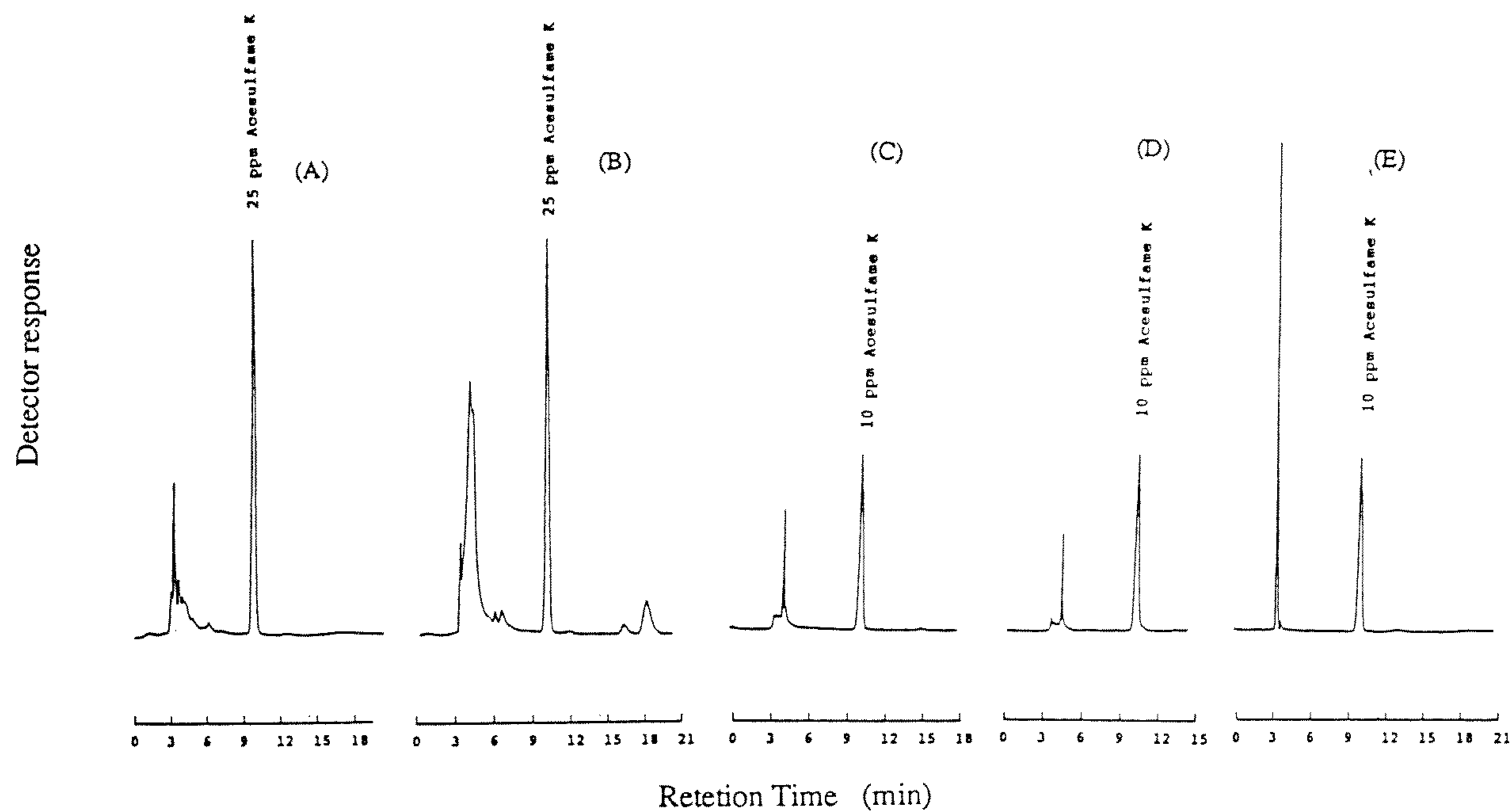


Figure 6. HPLC chromatograms of acesulfame K added in (A)cola,(B)candy,(C)dessert,(D)pudding,(E)chewing gum.(condition as in Figure 2)

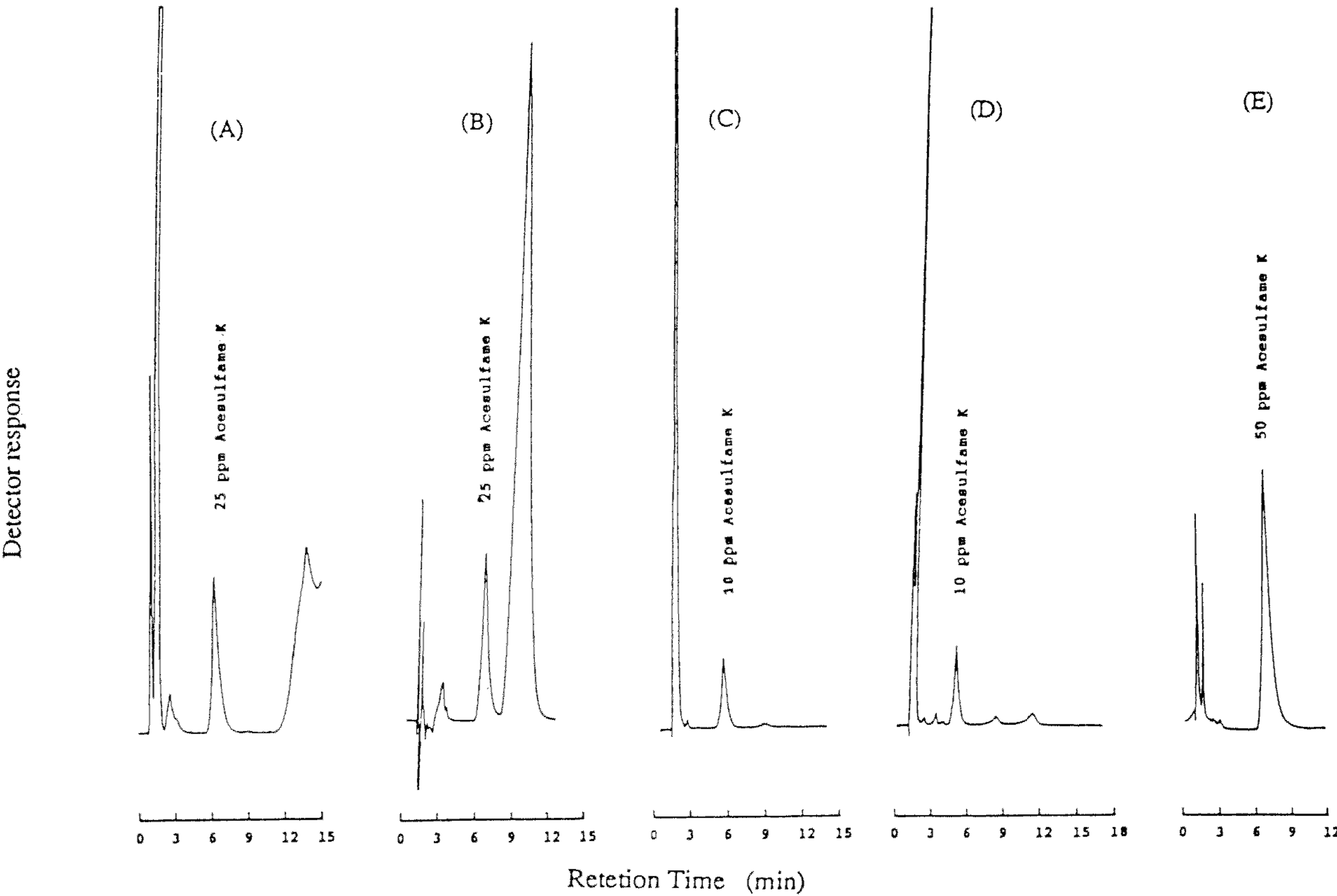


Figure 7. HPLC chromatograms of acesulfame K added in(A)cola,(B)candy,(C)dessert,(D)pudding,(E)chewing gum.(condition as in Figure 3)

Table 4. Recoveries of acesulfame K in various food products analyzed by HPLC and HPIC.

Food Item	Added amount (μg/g sample)	Recovery ^a (%)	
		HPLC ^b	HPIC ^c
Cola	200	100.9(6.7%)	110.4(8.2%)
	500	90.9(4.0%)	103.0(7.5%)
	1000	92.7(7.1%)	93.3(2.4%)
Candy	200	98.1(1.7%)	98.1(3.1%)
	500	95.6(0.6%)	91.6(3.1%)
	1000	97.4(1.7%)	95.4(2.7%)
Dessert	200	97.2(8.2%)	93.1(12.0%)
	500	100.6(7.5%)	101.2(3.4%)
	1000	93.3(2.6%)	94.9(0.9%)
Pudding	200	101.4(5.8%)	99.7(7.0%)
	500	102.4(7.9%)	94.7(6.6%)
	1000	114.0(10.2%)	104.1(7.2%)
Chewing gum	200	98.7(3.6%)	104.4(3.7%)
	500	99.7(3.4%)	96.7(0.9%)
	1000	94.7(1.1%)	95.5(1.7%)
Means		98.5(5.6%)	98.4(5.4%)

^aAverage of three determinations. The values in the parentheses are coefficient of variance (cv).
^bDetection limits of acesulfame K in foods analyzed by HPLC : cola, 0.2 μg/g; candy, 1 μg/g; pudding, 0.1 μg/g; dessert , 0.1 μg/g and chewing gum, 0.1 μg/g.
^cDetection limits of acesulfame K in foods mentioned above by HPIC are 5 μg/g.

Table 5. Analysis variance of acesulfame K in different samples by HPLC and HPIC.

Variation	df	Sum of squares	Mean square	F	F ⁰
Tretment	1	27.07	27.07	0.0041	4.20**
Error	28	1870089.03	66788.89		
Totals	29	1870116.10			

** : α=0.05

八、市售食品中acesulfame K含量分析

行政院衛生署於民國81年2月17日衛署食字第8119073號公告,添加醋磺內酯鉀等調味料之食品,應以中文顯著標示「本品使用人工甘味料:醋磺內酯鉀」字樣。自80年10月至81年6月間,購自台北地區各商店、超市抽購飲料11件,糖果13件,果醬、果凍類5件,口香糖7件,布丁類2件,蜜餞類4件,餐桌

上使用代糖4件,餅乾4件,共計50件,均無醋磺內酯鉀或acesulfame K之標示,經本實驗方法檢測結果,也都未檢出acesulfame K,表示國內市售食品中acesulfame K之使用尚未普遍。

參考文獻

1.Von Rymon Lipinski, V. R. and Huddart, B.

- E. 1983. Acesulfame K. Chemistry and Industry. 6 : 427-432.
2. Nil. 1988. FDA Ceras Hoechst's Non-Caloric Sweetener for Use in Dry Foods. Food Tech. 10 : 108.
3. Hood, L. L. and Schoor, M. 1990. Evolution, Properties and Application of an Approved High Intensity Sweetener. Cereal Foods World. 35(12) : 1184-1186.
4. Anon. 1990. Acesulfame K Present State of Approval. Confructa. Studien. 34(1/2) : 45-47.
5. 行政院衛生署. 1992. 食品添加物使用範圍及用量標準. 行政院衛生署. p14-11-1.
6. Von Rymon Lipinski, V. R. and Brixius H. C. 1979. Analysis of Acesulfame K by TLC. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 168 : 212-213.
7. Grosspietsch, H. and Hachenberg, H. 1980. Analysis of Acesulfame K by HPLC. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171(41) : 41-43.
8. Veerabhadrrao, 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.
9. 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.
10. Lawrence, J. F. and Charbonneau, C. F. 1988. Determination of Seven Artificial Sweeteners in Diet Food Preparations by Reverse Phase Liquid Chromatography with Absorbance Detection. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71 : 934-937.
11. Biemer, T. A. 1989. Analysis of Saccharin, Acesulfame K and Sodium Cyclamate by High Performance Ion Chromatography. J. Chromatogr. 463 : 463-468.
12. Klein, H. and Stoya, W. 1987. Isotachophoretic Determination of Acesulfame K in Foodstuffs. Ernahrung. 11(5) : 322-325.
13. 林南增編. 1986. 高效能液相層析法概要. 昇陽出版社. p.49.

Comparison between HPLC and HPIC for Determination of Acesulfame Potassium in Food

PAI-WEN WU, CHIEU-CHEN CHENG AND SHIN-SHOU CHOU

National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan

ABSTRACT

Test Results, using High Performance Liquid Chromatographic methods (HPLC) and High Performance Ion Chromatographic methods (HPIC) were compared for determination of acesulfame potassium in beverages, candy, desserts, baked goods, and chewing gum. The ready-for-analysis solution was separated and determined by HPLC on Bondclone 10 C₁₈ column with 0.02 M potassium dihydrogen phosphate : acetonitrile (98 : 2,v/v) as mobile phase and detected by UV at 228 nm, and by HPIC on Dionex AG₅ guard column and AS₅ anion separation column with 0.5 mM sodium carbonate as eluent, 12 mM sulfuric acid as regener-

ant, detected by conductivity. The results are shown below :

1. The average recoveries of acesulfame K from samples spiked at 200, 500 and 1000 $\mu\text{g/g}$ determined by HPLC and HPIC were 98.5% and 98.4%, respectively. There were no significant differences ($\alpha=0.05$) between the recoveries of acesulfame K by HPLC and HPIC.

2. The detection limits of acesulfame K by HPLC and HPIC were 0.1~1.0 $\mu\text{g/g}$ and 5.0 $\mu\text{g/g}$, respectively.

3. Among the 50 samples collected from supermarkets in Taipei from Oct. 1991 to Jun. 1992, no acesulfame K was detected.

Key words : HPLC, HPIC, acesulfame K, goods

