藥物食品檢驗局調查研究年報. 27 : 252-263 2009
Ann Rept. BFDA Taiwan R.O.C. 27 : 252-263 2009

食品中醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸檢驗方法之探討及市售品調查

陳惠章　鄭守訓

南部檢驗站

摘　要

檢體以水萃取，水萃取液直接經0.45 μm濾膜過濾，取濾液供作檢測醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之檢液，以高效液相層析儀檢測，所使用的層析管柱為XBridge Phenyl type (5 μm, 4.6 mm i.d., × 150 mm)，以0.2%磷酸溶液與乙腈(88：12, v/v)之混合液為分析醋磺內酯鉀、糖精及甘精之移動相溶液，以光二極體陣列檢出器，波長230 nm偵測；檢測環己基(代)磺醯胺酸時，則將檢液置於硫酸溶液中，與次氯酸鈉反應生成N, N-dichlorocyclohexylamine衍生物，以正己烷萃取，再經5%碳酸氫鈉溶液除去檢液中的游離氯後，經C_{18}層析管柱分析，以乙腈：0.02%磷酸溶液(70：30, v/v)之混合液為移動相溶液，以光二極體陣列檢出器，以波長314 nm偵測。研究結果顯示分離效果及重複性皆佳。蜜餞、饅頭、芋頭餡、南瓜子及冬瓜茶檢體中分別添加相當於200、100及50 ppm之醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準溶液，線性關係良好。在5種檢體中之平均回收率，分別為醋磺內酯鉀之平均回收率介於89.9~104.1%之間，且變異係數小於4.0%；糖精之平均回收率介於82.7~102.8%之間，且變異係數小於5.0%；甘精之平均回收率介於82.4~107.8%之間，且變異係數小於5.4%；環己基(代)磺醯胺酸之平均回收率介於88.1~104.8%之間，且變異係數小於3.6%。本方法醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之檢出限量皆為0.001 g/kg，同日內及異日間之重複性分析變異係數分別小於5.4%及3.3%，顯示本方法之精密度可接受。

關鍵詞：人工甘味劑、醋磺內酯鉀、糖精、甘精、環己基(代)磺醯胺酸及高效液相層析法

前　言

隨著生活品質提昇，為了享受美食、增加口感及講究健康苗條，人工甘味劑已被廣泛使用於各類食品中作為砂糖替代品，因其具有甜度高、熱量低及價格便宜之優點，且適當的人工甘味劑混合使用，常有特殊加成效果。食品中普遍添加的人工甘味劑有醋磺內酯鉀(acesulfame potassium)、糖精(saccharin)、甘精(dulcin)及環己基(代)磺醯胺酸(cyclamate)等單獨或幾種混合使用[(1)]。醋磺內酯鉀的甜度為蔗糖的160倍，沒有熱量，對熱安定，一般使用無殘留味，但在高濃度添加使用時會有輕微的餘味；與其它人工甘味劑共同使用時，有相乘效果；糖精難溶於水可溶於乙醇，糖精鈉則易溶於水，對熱安定，食用時具有一點持續性的苦味，進入人體後在腸道被吸收，但不被人體所利用，直接由尿液排出體外；環己基(代)磺醯胺酸甜度為蔗糖的30倍，因可能是癌症促進劑(cancer promoter)，因此在美國、日本及香港是禁用，但WHO及歐盟國家都認為是安全食品添加物，仍准許使用，為避免糖精、環己基(代)磺醯胺酸使用過量，對人體造成不良作用，因此衛生署訂有使用範圍及限量標準，另外甘精因對肝臟及消化道有致癌性，目前已被禁止

使用[2]。

同時檢測多種人工甘味劑之分析方法，早先以薄層層析法(thin layer chromatography, TLC)鑑別飲料中糖精、環己基(代)磺醯胺酸[3-5]。之後，以高效液相層析法[6-7]同時檢測數種人工甘味劑；以及利用離子配對萃取後置管(ion pair post column extractor)和液相層析管相連接，可同時檢測低熱量飲料中醋磺內酯鉀等三種甘味劑及其他添加物，包括無法以一般紫外光檢出器偵測之環己基(代)磺醯胺酸[8]。另外利用在水溶液中離子化的特性，以毛細管電泳分析方法(capillary electrophoresis, CE)[9-10]分析食品中醋磺內酯鉀、糖精及環己基(代)磺醯胺酸。目前國內的公告方法是將環己基(代)磺醯胺酸經衍生化後以GC分析[11]。

本研究之目的在於建立以液相層析法同時分析市售食品中醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸等人工甘味劑之含量。

材料與方法

一、材料

㈠檢體來源

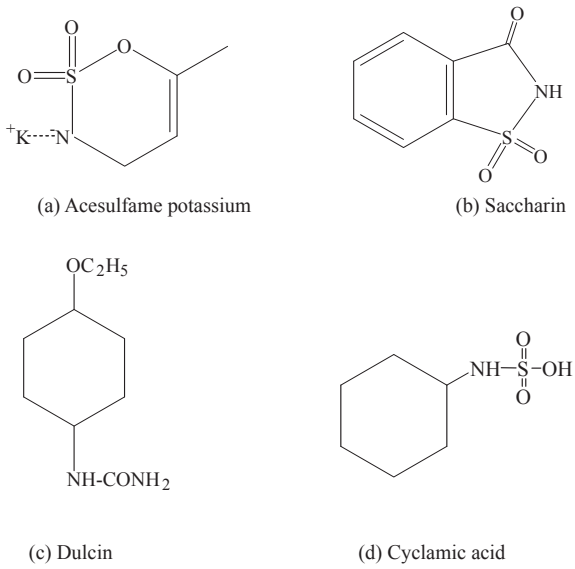
於民國97年1月至12月間自南部地區傳統市場、便利商店、大賣場抽購蜜餞15件、饅頭1件、芋頭餡5件、南瓜子4件、開心果1件、麵包1件及冬瓜茶1件等共28件檢體，供作本研究之檢體。添加回收試驗及靈敏度偵測之樣品均經事先檢測確認不含受試成分。

㈡對照標準品

醋磺內酯鉀(acesulfame potassium)及環己基(代)磺醯胺酸鈉(sodium cyclamate)購自日本Fluka公司，純度皆為99.0%以上。糖精(saccharin)及甘精(dulcin)購自德國Sigma-Aldrich公司，純度皆為99.0%以上，其化學結構式如圖一。

㈢溶劑與藥品

乙腈及正己烷均為LC級，購自愛爾蘭共合國Lab-Scan公司。磷酸(85.0~87.0%)為試藥特級，購自德國Riedel-deHaen公司。乙醇為GC級，購自日本Fluka公司，純度為99.8%以上。碳酸氫鈉為試藥特級，純度為99.8%以上，硫酸為試藥級，純度為97%，均購自日本和光純藥工業株式會社。6%次氯酸鈉溶液，為試藥級，購自美國J. T. Baker公司。



圖一、(a) 醋磺內酯鉀 (b) 糖精 (c) 甘精 (d) 環己基(代)磺醯胺酸標準品之化學結構式

㈣儀器設備

1. 高效液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC)：型號：Hitachi 2200；日本Hitachi公司產品。檢測器：光二極體陣列紫外光/可見光檢出器(photodçde array UV-Vis detector, PDA)。
2. 均質機(SMT homogenizer)：日本Shibamata公司(東京)產品。
3. 振盪器(Shaker)：Shaker SA31型；日本Yamato公司產品。

㈤器具

1. 抽氣瓶：250 mL。
2. 布赫納漏斗(Buchner funnel)：直徑8 cm。
3. 塑膠離心管：50 mL及15 mL。
4. 濾紙：90 mm濾紙。
5. 濾膜：孔徑0.22 μm，nylon材質。

6. 容量瓶：50 mL、100 mL及1000 mL。

㈥高效液相層析儀條件

1. 醋磺內酯鉀、糖精及甘精

⑴層析管：Waters XBridge™ Phenyl, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm i.d., Waters Corporatçn, U.S.A.。

⑵移動相溶液：乙腈：0.2%磷酸溶液＝ 12 : 88 (v/v)。

⑶移動相流速(flow rate)：1.0 mL/min。

⑷注入量(injectçn volume)：20 μL。

2. 環己基(代)磺醯胺酸

⑴層析管：Waters XTerra®RP_{18} , 3.5 μm, 100 mm × 4.6 mm i.d., Waters Corporation, U.S.A.。

⑵移動相溶液：乙腈：0.2%磷酸溶液：水＝ 70：3：27 (v/v/v)。

⑶移動相流速(flow rate)：1.0 mL/min。

⑷注入量(injectçn volume)：20 μL。

二、方法

㈠試劑之調製

1. 50%硫酸溶液：
取去離子水約400 mL，另取濃硫酸500 mL，將濃硫酸緩緩倒入預先冰冷的去離子水中，加去離子水至1000 mL。

2. 0.2%磷酸溶液(v/v)：
取2 mL磷酸加去離子水至1000 mL。

3. 0.02%磷酸溶液(v/v)：
取0.2 mL磷酸加去離子水至1000 mL。

4. 5%碳酸氫鈉溶液：
稱取碳酸氫鈉50.0 g溶於去離子水，並加至1000 mL。

5. 分析醋磺內酯鉀、糖精及甘精之移動相溶液調製：
乙腈及0.2%磷酸溶液，以12：88 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

6. 分析環己基(代)磺醯胺酸之移動相溶液調製：
乙腈及0.02%磷酸溶液以70：30 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

㈡標準曲線之製作

1. 標準溶液之調製：

⑴醋磺內酯鉀、糖精及甘精標準溶液：
取醋磺內酯鉀及糖精對照用標準品各約500 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，貯存於5℃，供作標準原液。另取甘精對照用標準品約500 mg，精確稱定，以乙醇溶解並定容至100 mL，貯存於5℃，供作標準原液。臨用時取適量標準原液混合後，以去離子水稀釋至25～250 μg/mL，供作混合標準溶液。

⑵環己基(代)磺醯胺酸標準溶液：
取相當於含環己基(代)磺醯胺酸約500 mg對照用標準品，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，貯存於5℃，供作標準原液。使用時取適量標準原液，以去離子水稀釋至25～250 μg/mL，供作標準溶液。

2. 標準曲線之製作：

⑴醋磺內酯鉀、糖精及甘精：
精確量取混合標準溶液各20 μL，分別注入高效液相層析儀，依前述HPLC條件進行分析，由波峰面積對濃度作圖，經回歸分析製成標準曲線。

⑵環己基(代)磺醯胺酸：
各取標準溶液5 mL，置於50 mL塑膠離心管中，依序加入正己烷5 mL、6%次氯酸鈉溶液1 mL及50%硫酸溶液1 mL，振盪1分鐘，靜置分層後，取上層液3 mL置於另一15 mL塑膠離心管中，加入5%碳酸氫鈉溶液5 mL，振盪1分鐘，靜置分層後，取上層液以濾膜過濾，供作衍生化標準溶液。精確量取衍生化標準溶液各20 μL，分別注入高效液相層析儀，依高效液相層析條件進行分析，由波峰面積對濃度作圖，經回歸分

析製成標準曲線。

㈢醋磺內酯鉀、糖精及甘精的檢驗分析方法

1. 萃取

將檢體細切後，取約10 g，精確稱定，置於均質機容器中，加入去離子水30mL，靜置10分鐘，使組織膨脹後均質1分鐘，以布赫納漏斗抽氣過濾，再以去離子水20 mL，清洗均質杯殘渣並過濾，合併濾液倒入容量瓶中混合均勻並定容至50 mL，取溶液以0.22 μm濾膜過濾，供作檢液，另外如檢體為液體時，直接精確稱取約10 g，置於容量瓶中，加入去離子水混合均勻並定容至50 mL，取溶液以0.22 μm濾膜過濾，供作檢液。(如圖二)。

2. 鑑別及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各20 μL，分別注入高效液相層析儀，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別，並由標準曲線求得檢體中醋磺內酯鉀、糖精及甘精含量，計算式如下：

檢體中醋磺內酯鉀、糖精及甘精含量(g/kg) ＝ (C × V)/(W × 1000)

C：由標準曲線求得檢液中醋磺內酯鉀、糖精及甘精之濃度(μg/mL)

V：檢液之體積(mL)

W：檢體重量(g)

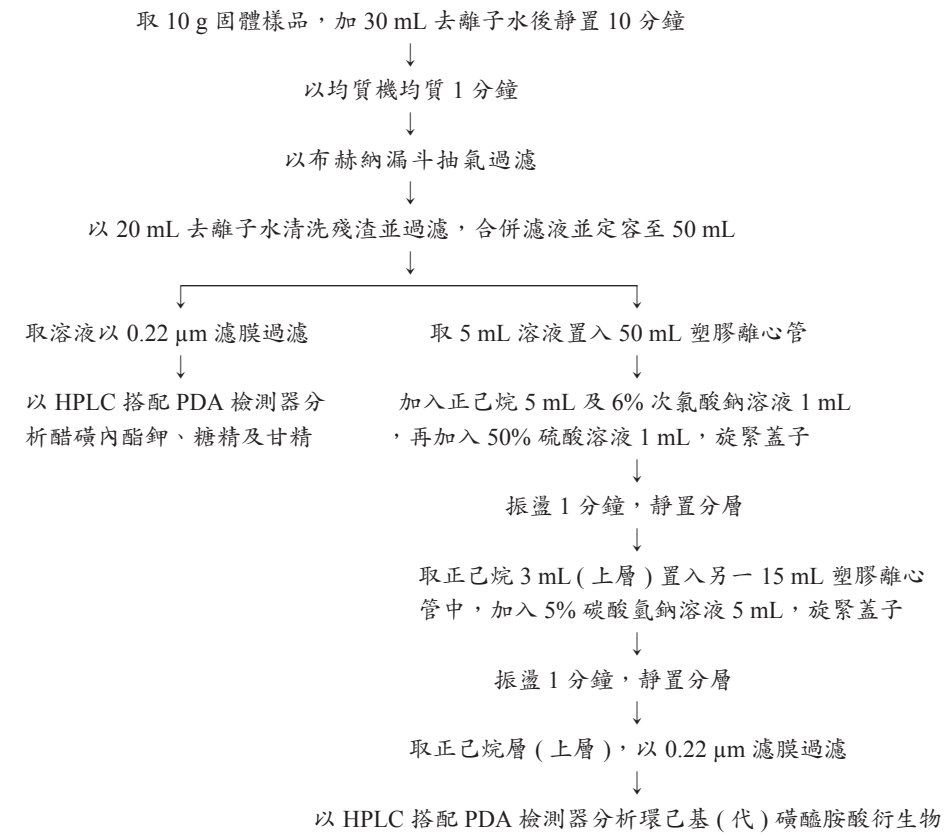
㈣環己基(代)磺醯胺酸的檢驗分析方法

1. 衍生化反應

取(三)、1.節之檢液5 mL，依(二)、2. (2)節步驟反應，取得衍生化檢液。

2. 鑑別及含量測定

精確量取上述衍生化檢液及衍生化標準溶



圖二、食品中醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基 (代) 磺醯胺酸之分析流程圖

液各20 μL，分別注入高效液相層析儀，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別，並由標準曲線求得檢體中環己基(代)磺醯胺酸含量，計算式如下：

檢體中環己基(代)磺醯胺酸含量(g/kg) = (C × V)/(W × 1000)

C：由標準曲線求得檢液中環己基(代)磺醯胺酸之濃度(μg/mL)

V：檢液之體積(mL)

W：檢體重量(g)

㈤檢出限量試驗

取均質空白檢體，分別添加適量之醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準溶液，依上述方式調製成檢液進行分析，以訊號比(S/N ratio)大於3做為判定基準，估計其檢出限量。

㈥添加回收試驗

取均質空白檢體，分別添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準溶液，使之相當於50、100及200 ppm之含量，靜置30分鐘後，每一添加量作三重複分析，同時操作空白試驗，依前述分析方法操作，經高效液相層析定量後，與原來添加之濃度比較，計算醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之回收率。

㈦同日內及異日間重複分析評估

同一天內，以各空白檢體分別添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準溶液，使之相當於50、100及200 ppm 之含量，靜置30分鐘後，依前述分析方法操作，其每一添加量進行三重複分析，分析三次(n = 3)，同時操作空白試驗，進行同日內重複分析探討。異日間重複分析，即不同天每日重新配製標準溶液添加入空白檢體中，依前述分析方法操作，每一濃度測定三次，分析三日(即每一濃度九重複)，分別計算其標準偏差(standard deviatçn)及變異係數(coefficient of variatçn)。

結果與討論

一、最適偵測波長之選擇

取200 μg/mL之標準溶液注入高效液相層析儀，以PDA於波長200~400 nm之間進行偵測，醋磺內酯鉀、糖精及甘精之紫外光最大吸收波長分別為230、208及240 nm，為避免短波長的干擾過多，故選定230 nm作為同時分析醋磺內酯鉀、糖精及甘精之偵測波長，如檢出糖精且有雜peak干擾時，可再利用260 nm觀察圖譜是否有干擾後再積分波峰定量，而環己基(代)磺醯胺酸的衍生物之吸收峰有210及314 nm，考慮314 nm的干擾較少，故選314 nm為環己基(代)磺醯胺酸的衍生物偵測波長(如圖三)。

二、前處理之探討

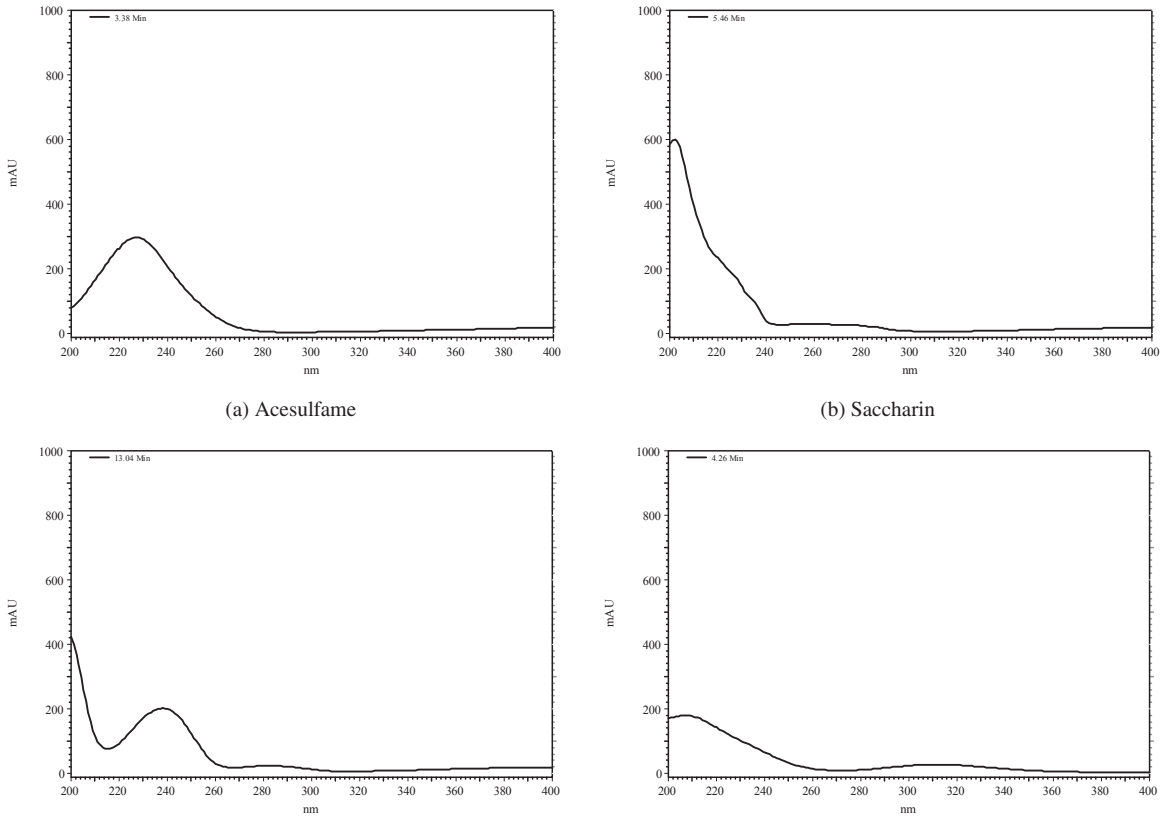
樣品前處理目的是去除干擾物質，增加分析管柱使用壽命及偵測靈敏度，更重要的是可得到信賴的分析結果。

㈠萃取溶劑之探討

極性是選擇溶劑最重要之因素，溶劑之極性越接近待測物，萃取效果越佳。醋磺內酯鉀、糖精及環己基(代)磺醯胺酸都極易溶於水中，而甘精可微溶於水中，因此選用水當萃取溶劑，中國國家標準CNS 10950號食品中人工甘味劑檢驗法[11]中使用大量乙酸乙酯進行萃取，以水萃取的優點是可以完整萃取出人工甘味劑，且減少使用有機溶劑，更可以減少油溶性干擾物被萃取出，缺點是水不易濃縮，檢液中的人工甘味劑的濃度要達0.001 g/kg才可被偵測到，但人工甘味劑的使用量一般都高於檢出限量才具有甜味，所以決定使用水當檢體之萃取溶劑。

㈡環己基(代)磺醯胺酸之衍生化反應

環己基(代)磺醯胺酸最大吸收波長在202 nm，若直接選用波長202 nm作為HPLC分析的條件，極易因太多雜質也有吸收訊號而干擾，容易誤判且無法準確定量，因此在CNS 10950的方法中，檢測環己基(代)磺醯胺酸是



(a) Acesulfame　(b) Saccharin

(c) Dulcin　(c) Cyclamic acid 衍生物

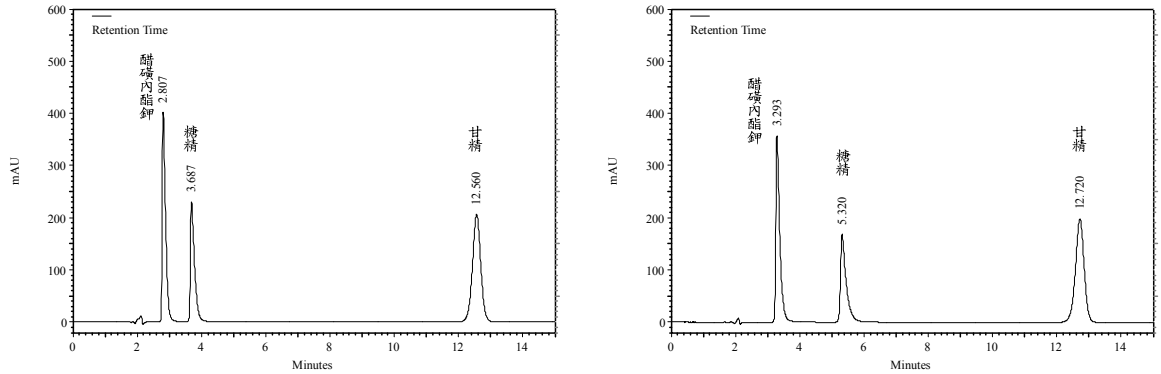
圖三、(a) 醋磺內酯鉀、(b) 糖精、(c) 甘精及 (d) 環己基 (代) 磺醯胺酸於 0.2% 磷酸 ： 乙腈 (88 : 12, v/v) 溶液之光二極體陣列檢出器吸收光譜圖

以衍生化反應後，利用GC方法分析衍生物，其樣品於沸水浴上加熱30分鐘中萃取，放冷後，置於冰水中，加10%亞硝酸鈉溶液5 mL及10%硫酸溶液5 mL，於冰浴衍生反應30分鐘，所以本研究參考日本學者小林千種等人的文獻[12-13]，將環己基(代)磺醯胺酸用次氯酸鈉反應後，再以HPLC/PDA檢測，選用較無干擾的314 nm波長偵測，分析時間較GC方法短，且檢出結果疑似不符規定時，可藉由分光光譜分析進行定性。

三、層析管柱及移動相的選擇

以水萃取時，檢液內含有糖及鹽等高極性物質，若分析的移動相中之有機相比率高時，易造成注入的檢液中所含之糖及鹽產生結晶而使層析管柱的壓力上升，所以移動相中之水相比率應較高。又因糖精分子易解離變成離子型，使波峰的滯留時間短而易與雜質波峰重疊，故為抑制糖精分子在分析過程中解離成帶電離子，因此將移動相調成酸性以延長糖精分子在非極性層析管中的滯留時間。因酸性的移動相可能會溶解矽膠，因此選用耐酸性移動相的管柱填充物。移動相選用磷酸的酸性，因在存放時不致因磷酸揮發造成酸性不足。移動相用乙腈：0.2%磷酸溶液= 12 : 88 (v/v)，分析結果如圖四。

環己基(代)磺醯胺酸在衍生化反應後變成N, N-dichloro-cyclohexylamine，N,N-dichlorocyclohexylamine是屬於較非極性分子，為要縮短樣品分析時間，需提高移動相



(a) 移動相中磷酸液濃度為0.02%磷酸　　(b) 移動相中磷酸液濃度為0.2%磷酸

圖四、醋磺內酯鉀、糖精、甘精標準品在不同磷酸濃度移動相之層析圖譜

組成中有機溶劑的比例，所以，參考日本學者小林千種等人的文獻[12-13]，以乙腈：0.02%磷酸= 70：30 (v/v)作為分析環己基(代)磺醯胺酸衍生物的移動相。

四、樣品種類對萃取之影響

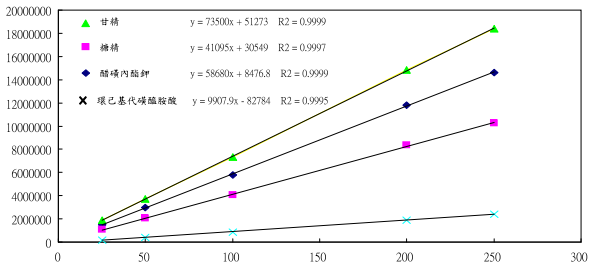
乾燥樣品例如麵包，水分含量少且易吸水膨脹，需注意樣品與水的比例，若有此現象，可將檢體取樣量減少，以免樣品吸水膨脹後，萃取不均勻。

五、標準品的線性關係

以醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸等標準溶液各25、50、100、200及250 μg/mL，依建立的方法步驟處理，以PDA檢出器分析，依層析後的波峰面積對應各濃度進行線性回歸(圖五)。醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準曲線相關係數(R^2)分別為0.9999、0.9999、0.9997及0.9995 (如表一)。

六、添加回收試驗及最低檢出限量

蜜餞、饅頭、芋頭餡、南瓜子及冬瓜茶分別添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準品使各含50、100及200 ppm，依本研究所建立之方法進行回收試驗，結果在蜜餞、饅頭、芋頭餡、南瓜子及



圖五、醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基 (代) 磺醯胺酸標準曲線

表一、醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸標準曲線之線性回歸方程式及其相關係數

標準品名稱	線性方程式	相關係數 (R^2)
醋磺內酯鉀	Y =58680 X ＋ 8476.8	0.9999
糖精	Y = 41095 X ＋30549	0.9997
甘精	Y = 73500 X ＋ 51273	0.9999
環己基(代)磺醯胺酸	Y = 9907.9 X － 82784	0.9995

冬瓜茶之平均回收率，分別為醋磺內酯鉀介於97.5~104.1%、89.9~96.2、90.8~98.8、93.1~99.3及98.5~101.5之間，且變異係數分別小於2.4%、4.0%、3.1%、0.8%及2.9%。糖精介於101.6~102.8%、83.3~91.9、82.7~92.5、95.1~99.3及95.5~101.6之間，且變異係數分別小於2.9%、4.1%、2.9%、0.8%及5.0%。甘精介於103.3~107.8%、

表二、醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之之回收率

標準品	檢體名稱	添加濃度 (μg/mL)	回收率[a]
醋磺內酯鉀	蜜餞	50	104.1 (0.6)[b]
		100	100.1 (2.4)
		200	97.5 (0.9)
	饅頭	50	89.9 (4.0)
		100	93.8 (1.2)
		200	96.2 (0.8)
	芋頭餡	50	90.8 (3.1)
		100	94.0 (1.6)
		200	98.8 (1.2)
	南瓜子	50	93.1 (0.7)
		100	95.5 (0.8)
		200	99.3 (0.1)
	冬瓜茶	50	98.5 (1.0)
		100	98.6 (2.9)
		200	101.5 (0.9)
糖精	蜜餞	50	102.7 (1.3)
		100	101.6 (2.9)
		200	102.8 (0.9)
	饅頭	50	83.3 (4.1)
		100	87.5 (1.2)
		200	91.9 (0.8)
	芋頭餡	50	82.7 (2.8)
		100	85.7 (2.9)
		200	92.5 (1.7)
	南瓜子	50	95.6 (0.7)
		100	95.1 (0.8)
		200	99.3 (0.1)
	冬瓜茶	50	95.5 (5.0)
		100	98.7 (2.6)
		200	101.6 (0.2)

標準品	檢體名稱	添加濃度 (μg/mL)	回收率[a]
甘精	蜜餞	50	107.8 (1.7)
		100	105.5 (1.8)
		200	103.3 (1.7)
	饅頭	50	95.4 (5.4)
		100	93.4 (1.2)
		200	93.8 (1.4)
	芋頭餡	50	86.7 (1.6)
		100	87.3 (2.3)
		200	82.4 (2.0)
	南瓜子	50	94.7 (0.6)
		100	94.2 (1.0)
		200	96.4 (0.1)
	冬瓜茶	50	99.6 (0.1)
		100	96.4 (2.9)
		200	98.7 (1.4)
環己基(代)磺醯胺酸	蜜餞	50	88.1 (0.9)
		100	86.3 (1.3)
		200	104.8 (0.5)
	饅頭	50	96.5 (3.6)
		100	100.9 (1.8)
		200	98.1 (0.2)
	芋頭餡	50	103.9 (0.3)
		100	96.9 (2.2)
		200	95.2 (1.4)
	南瓜子	50	99.3 (1.0)
		100	102.3 (1.4)
		200	101.5 (0.1)
	冬瓜茶	50	91.2 (1.5)
		100	93.8 (1.8)
		200	98.2 (1.8)

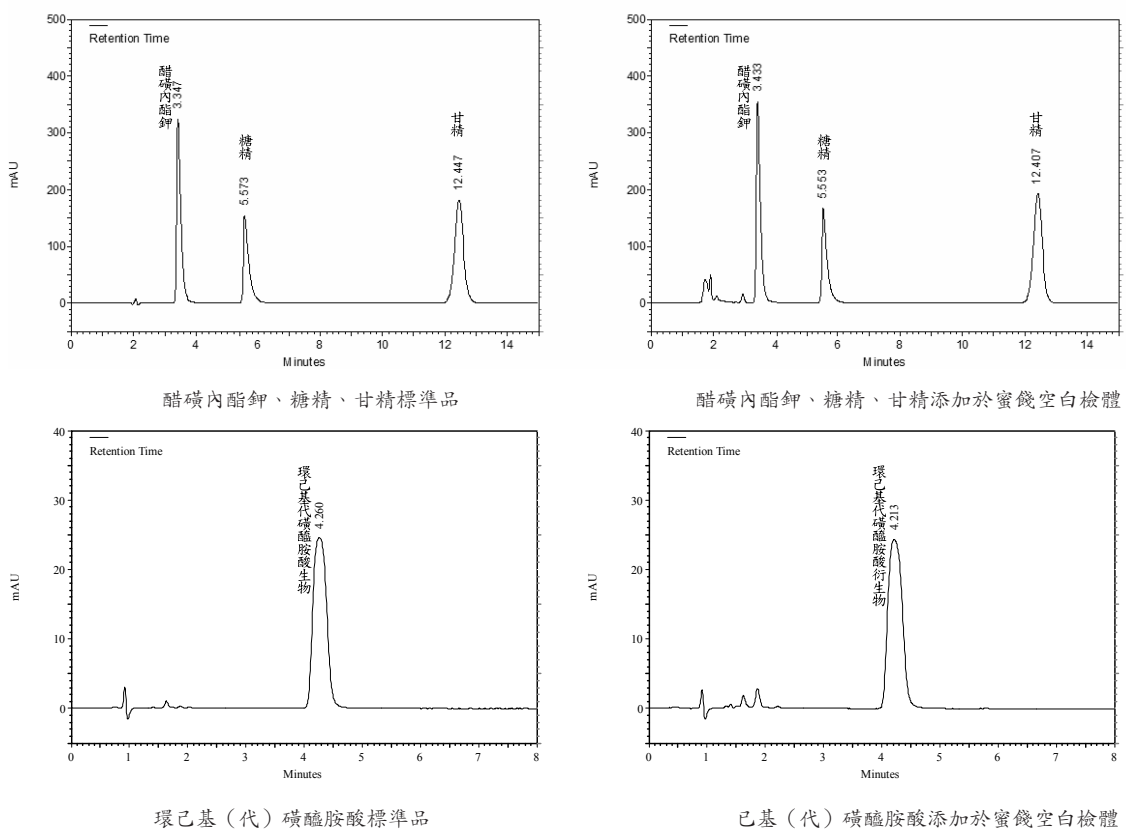
a: 三次實驗的平均值(%)
b: 變異係數% (CV, %)

93.4~95.4、82.4~87.3、94.2~96.4及96.4~99.6之間，且變異係數分別小於1.8%、5.4%、2.3%、1.0%及2.9%。環己基(代)磺醯胺酸介於86.3~104.8%、96.5~100.9、95.2~103.9、99.3~102.3及91.2~98.2之間，且變異係數分別小於1.3%、3.6%、2.2%、1.4%及1.8% ，以上回收率及變異係數如表二。由蜜餞、饅頭、芋頭餡、南瓜子及冬瓜茶分別添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之添加回收層析圖譜顯示液相層析之解析效果良好，且無雜質干擾，以蜜餞為例之分析圖譜如圖六。

檢出限量以S/N ratio大於3作為判定標準，此方法之檢出限量皆為1.0 ppm，以蜜餞為例之分析圖譜如圖七，遠低於行政院衛生署公告之准用限量[(2)]。

七、同日內及異日間之重複性分析

為了解分析系統及分析方法之穩定性，以醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺



圖六、蜜餞檢體中添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基 (代) 磺醯胺酸各 200 ppm 之圖譜

酸標準溶液，進行同日內及異日間之重複性分析，結果同日內及異日間之重複性分析變異係數分別小於5.4 %及3.3% (如表三)，顯示本方法之精密度可接受。

八、市售檢體之檢驗

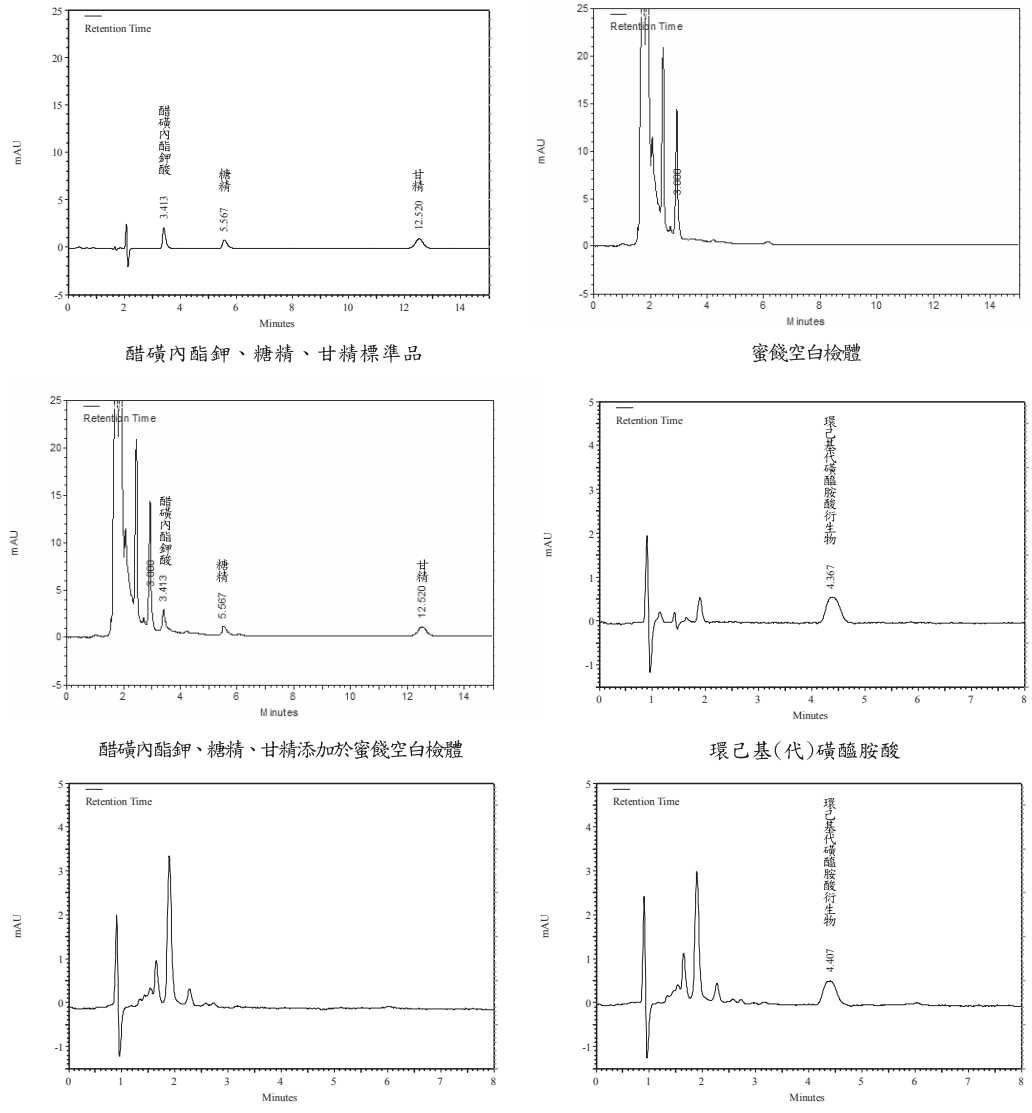
利用本方法分析市售蜜餞15件、饅頭1件、芋頭餡5件、南瓜子4件、開心果1件、麵包1件及冬瓜茶1件，結果9件蜜餞檢出糖精；3件南瓜子檢出環己基(代)磺醯胺酸；1件開心果檢出醋磺內酯鉀及1件麵包檢出不得添加使用的環己基(代)磺醯胺酸。

結　論

本研究建立以水萃取食品中醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸，醋磺內酯鉀、糖精、甘精直接以HPLC分析，環己基(代)磺醯胺酸則進行衍生化反應後再以HPLC分析，分別可於15分鐘內以HPLC完成檢測，分離效果及再現性皆佳。利用光二極體列陣檢測器進行吸收光譜之比對，達到進一步的確認。本方法精確可靠，可應用於例行性檢驗工作，建議研提為公告之檢驗方法，供相關單位檢測之依據。

參考文獻

1. Rymon, L. G. W. 1990. Intense sweeteners for fruit-based beverages. Confructa Studien 39-45.
2. 行政院衛生署。2009。食品添加物使用範圍及限量暨規格標準。98.01.22衛署食字第0980400197號令修正。
3. Rymon, L. G. W. and Brixius, H. C. 1980. Thin-layer chromatographic detection of acesulfame,



醋磺內酯鉀、糖精、甘精標準品　　蜜餞空白檢體

醋磺內酯鉀、糖精、甘精添加於蜜餞空白檢體　　環己基(代)磺醯胺酸

蜜餞空白檢體　　環己基(代)磺醯胺酸添加於蜜餞空白檢體

圖七、蜜餞檢體中添加醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基 (代) 磺醯胺酸之檢出限量 (0.001 g/kg) 圖譜

saccharin and cyclamate. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 168 (3): 212-213.

4. Korbelak, T. 1969. TLC identification of four artificial sweeteners in beverages. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52 (3): 487-493.
5. Tadeshita, R. 1972. Application of column and thin layer chromatographic detection of artificial sweeteners in foods. J. Chromatogr., 66 (2): 283-293.
6. Veerabhadrarao, 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.
7. 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.

表三、醋磺內酯鉀、糖精、甘精及環己基(代)磺醯胺酸之同日內及異日間之重複性分析

標準品	檢體名稱	添加濃度 (μg/mL)	同日內 (CV, %) (n=3)	異日間 (CV, %) (n=9)
醋磺內酯鉀	蜜餞	50	0.6	2.0
		100	2.2	1.2
		200	0.8	1.6
	饅頭	50	3.4	0.5
		100	1.1	1.6
		200	0.7	0.8
	芋頭餡	50	3.1	1.4
		100	1.6	1.8
		200	1.2	1.0
	南瓜子	50	0.7	0.9
		100	0.8	0.4
		200	0.1	0.5
	冬瓜茶	50	1.0	0.6
		100	2.9	2.1
		200	0.9	0.7
糖精	蜜餞	50	1.3	0.8
		100	2.9	2.1
		200	0.9	1.6
	饅頭	50	4.1	1.6
		100	1.2	1.8
		200	0.8	1.5
	芋頭餡	50	2.8	2.0
		100	2.9	1.5
		200	1.7	1.5
	南瓜子	50	0.7	0.5
		100	0.8	0.6
		200	0.1	0.6
	冬瓜茶	50	5.0	2.6
		100	2.6	2.1
		200	0.2	0.7
甘精	蜜餞	50	1.7	2.0
		100	1.8	1.3
		200	1.7	2.2
	饅頭	50	5.4	3.3
		100	1.2	1.8
		200	1.4	1.1
	芋頭餡	50	1.8	1.3
		100	2.6	2.5
		200	2.0	1.7
	南瓜子	50	0.6	0.8
		100	1.0	1.6
		200	0.1	0.4
	冬瓜茶	50	0.1	0.3
		100	2.9	1.2
		200	1.4	1.0
環己基(代)磺醯胺酸	蜜餞	50	0.9	0.5
		100	1.3	1.6
		200	0.5	0.9
	饅頭	50	3.6	2.6
		100	1.8	2.3
		200	0.2	0.7
	芋頭餡	50	0.3	0.5
		100	2.2	1.4
		200	1.4	0.6
	南瓜子	50	1.0	1.3
		100	1.4	1.2
		200	0.1	1.0
	冬瓜茶	50	1.5	1.1
		100	1.8	1.4
		200	1.8	1.0

8. 日本衛生試驗法註解(中文版)。 1996。食品添加劑試驗法，pp: 356- 364。
9. Biemer, T. A. 1989. Analysis of saccharin, acesulfame-potassium and sodium by high performance ion chromatograph. J. Chromatogr. 463: 463-468.
10. Thompson, C. O., Trenerry, V. C. and Kemmery, B. 1995. Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low-joule soft drinks and other foods. J. Chromatogr. A. 694: 507-514.
11. 食品中人工甘味劑之測定：中國國家標準：CNS 10950。
12. Hoo, D. and Hu, C. C. 1972. Quantitative conversion of cyclamate to N, N-dichlorocyclo hexylamine and ultraviolet spectrophotometric assay of cyclamate in food. Anal. Chem. 44 (12): 2111-2113.
13. 小林千種，中里光男，山嶋裕季子，田口信夫，安田和男，荻野周三。2004。Determinatçn of Cyclamate in Foods by GC and GC/MS 東京健安研セ年報 Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H., 55: 97- 100.

Developing Method for Determination of Acesulfame Potassium, Saccharin, Dulcin and Cyclamate in Process Food

HWI-CHANG CHEN AND SHOU-HSUN CHENG

Southern Regçnal Laboratory

ABSTRACT

A method for the determination of acesulfame potassium, saccharin, dulcin and cyclamate in processed food by high performance liquid chromatography was developed. The samples were extracted by water, and then filtered by 0.22 μm filter. Filtrates were injected into HPLC for testing of acesulfame potassium, saccharin and dulcin on an XBridge Phenyl type (5 μm, 4.6 mm i.d., × 150 mm) column using 0.2% phosphoric acid solution: acetonitrile = 88 : 12 (v/v) as mobile phase. The detection wavelength was set 230 nm. The cyclamate in the sample solution was derived to N, N-dichlorocyclohexylamine with sodium hypochlorite and then extracted by hexane. The testing of N, N-dichlorocyclohexylamine was performed on a C18 (5 μm, 4.6 mm i.d., × 250 mm) column using 0.02% phosphoric acid solution : acetonitrile = 30 : 70 (v/v) as mobile phase. The detection wavelength was 314 nm. The results indicated that the average recoveries in five samples spiked with 50, 100 and 200 μg/mL were ranged from 89.9 to 104.1% with C. V. less than 4.0% for acesulfame potassium, from 82.7 to 102.8% with C. V. less than 5.0% for saccharin, from 82.4 to 107.8% with C. V. less than 5.4% for dulcin, from 88.1to 104.8% with C. V. less than 3.6% for cyclamate. The detection limits in five samples were all 0.001 g/kg. Their coefficients of variation of intra-day and inter-day assays were lower than 5.4% and 3.3%. These results indicated that the developed method was satisfactory.

Key words: high performance liquid chromatography, acesulfame potassium, saccharin, dulcin and cyclamate