

食品中人工甘味劑之檢驗方法

Methods of Test for Artificial Sweeteners in Food

1. 適用範圍：本檢驗法適用於食品中人工甘味劑之檢驗。

2. 檢驗方法：

2.1. 濾紙層析法 (Paper Chromatography)：適用於人工甘味劑之定性。

2.1.1. 裝置：

2.1.1.1. 紫外燈：包括 254 nm 及 365 nm (或 375 nm) 兩波長。

2.1.1.2. 展開槽。

2.1.2. 試藥：

2.1.2.1. 醋酸乙酯、乙醇、氯化鈉、鹽酸、氫氧化銨 (氨水)、正己烷、氫氧化鈉、無水硫酸鈉、正丁醇、異戊醇、吡啶 (Pyridine)、硝酸銀、亞硝酸鈉、氯化鋇、四羥基醌二鈉鹽 (Tetrahydroxyquinone disodium salt)、對-二甲胺基苯甲醛 (P-Dimethylaminobenzaldehyde) 均採用試藥級。

2.1.2.2. 氨性乙醇之調製：取 50 % 乙醇 5 ml 加 10 % 氨水至 9.5 ml。

2.1.3. 器具及材料：

2.1.3.1. 毛細管。

2.1.3.2. 濾紙：層析用濾紙。

2.1.3.3. 分液漏斗。

2.1.4. 展開溶媒：

(1) 正丁醇：25 % 氨水 (4 : 1)。

(3) 異戊醇：吡啶：水 (3 : 1 : 1.5)，激烈振搖靜置後取有機溶媒層。

2.1.5. 標準溶液之調製：

2.1.5.1. 糖精標準溶液：

取糖精鈉鹽 (Saccharin sodium) (標準品或試藥級) 50 mg，溶於 5 ml 之水中供作標準溶液。

2.1.5.2. 環己基 (代) 磺醯胺酸標準溶液：

取環己基 (代) 磺醯胺酸鈉 (Sodium cyclamate) (標準品或試藥級) 200 mg，溶於 5 ml 之水中供作標準溶液。

2.1.5.3. 對位乙氧基苯胺標準溶液：

取對位乙氧基苯胺 (Dulcin) (標準品或試藥級) 20 mg，溶於 5 ml 之乙醇中供作標準溶液。

2.1.6. 發色液：

2.1.6.1. 糖精發色液 - 硝酸銀溶液：

取硝酸銀 170 mg 加水 1 ml，溶解後加 10 % 氨水 5 ml，再加乙醇稀釋為 200 ml 之溶液。

2.1.6.2. 環己基 (代) 磺醯胺酸發色液：

2.1.6.2.1. 環己基 (代) 磺醯胺酸第一發色液：取 2 % 鹽酸 10 ml，2 % 亞硝酸鈉溶液 10 ml

及 1 % 氯化鋇溶液 5 ml 混合之溶液 (臨用時混合配製) 。

2.1.6.2.2. 環己基 (代) 磺醯胺酸第二發色液 : 1 % 四羥基砒二鈉鹽溶液。

2.1.6.3. 對位乙氧苯胺發色液 - 對 - 二甲胺基苯甲醛溶液 :

取對 - 二甲胺基苯甲醛 1 g 加 1 N 鹽酸 100 ml 溶解之溶液。

2.1.7. 檢液之調製 :

2.1.7.1. 液狀檢體 (果汁、清涼飲料、含酒精飲料、醬油等) :

取檢體約 100 ~ 200 ml , 置於分液漏斗中 (必要時先經過濾 , 如為碳酸飲料或含酒精者 , 須先於水浴上加熱除去二氧化碳或乙醇 , 如含色素者 , 須先加活性炭使脫色後過濾) , 加 10 % 鹽酸使呈酸性 , 再加氯化鈉至飽和後 , 以每次 50 ml 之醋酸乙酯萃取二次 , 合併萃取液 , 續以每次 5 ml 之氯化鈉飽和溶液洗滌二次後 , 再以無水硫酸鈉脫水過濾 , 置於水浴上蒸乾 , 其殘渣加氨性乙醇 1 ml 溶解作為檢液。

2.1.7.2. 半液狀及固狀檢體 (果醬、果凍、粉末狀食品等) :

取檢體約 50 ~ 100 g , 必要時研碎或切碎之 , 加水 100 ~ 200 ml , 在室溫下時時攪拌 , 經 30 分鐘後過濾或離心分離 , 取濾液或上澄液依 2.1.7.1. 節操作。

2.1.7.3. 含油脂檢體 :

取檢體約 50 ~ 100 g 放入分液漏斗中 , 加 100 ~ 200 ml 正己烷及以 1 % 氫氧化鈉使成微鹼性之水 100 ~ 200 ml , 振搖混合 , 靜置後水層移至另一分液漏斗 , 以下依 2.1.7.1. 節操作。

2.1.8. 鑑別試驗 :

取濾紙於其下端約 3 cm 處 , 用鉛筆劃一橫線 , 沿橫線每隔 2 cm 處 , 以毛細管或微量吸管依次分別點上直徑約 0.3 cm 圓點 (5 ~ 15 μ l) 之各檢液及標準溶液 , 並風乾之而後置入盛有展開溶媒之展開槽內 , 濾紙須垂直 , 且不得碰到槽壁 , 使展開溶媒浸沒濾紙下端約 1 cm 處 , 然後密蓋之 , 俟展開溶媒浸潤上昇約 15 ~ 30 cm 處 , 取出風乾 , 分別以紫外燈照射檢視定位及發色液噴霧呈色 , 依檢液上昇斑點之位置及顏色與標準溶液比較鑑別之 :

以波長 254 nm 檢視 , 靠濾紙上端呈現灰黑色之紫外線吸收斑點可能為對位乙氧苯胺 , 靠下端呈現白色之螢點可能為糖精 , 然後於各檢液及標準溶液之斑點位置用鉛筆標記之 , 改以波長 365 nm 檢視時 , 則下端原已呈現白色螢點會消失。再以各別之發色液噴霧使呈色 , 首先 , 上端對位乙氧苯胺部份 , 在鉛筆標示以下遮蓋 , 以對位乙氧苯胺發色液噴霧 , 若鉛筆標記之部份呈現黃色斑點時 , 即可確認含有對位乙氧苯胺 , 風乾之 ; 於下端糖精部份 , 在鉛筆標示以上遮蓋 , 以硝酸銀溶液噴霧 , 風乾後若鉛筆標記之部份呈現棕色底白色斑點 , 即可確認含有糖精 ; 將已噴霧之前二部份遮蓋 , 中間部份以環己基 (代) 磺醯胺酸第一發色液噴霧 , 俟完全乾燥後 , 再以環己基 (代) 磺醯胺酸第二發色液噴霧 , 此時若呈現赤紅色底中間為白色之斑點 , 即可確認含有環己基 (代) 磺醯胺酸。

2.2. 高速液相層析法 (High Performance Liquid Chromatography) : 適用於糖精之定量。(註)

2.2.1. 裝置 :

高速液相層析儀 , 具有 254 nm 之紫外光檢出器。

2.2.2. 試藥 :

醋酸乙酯、鹽酸、乙醇、氯化鈉均採用試藥級 , 甲醇、PICA (Paired-Ion Chromatography reagent A, Tetrabutylammonium phosphate) 均採用液相層析級。

2.2.3. 移動相 (Mobile Phase) 溶液之調製 :

取 PICA 約 7.5 ml 溶於 1000 ml 之水中 , 搖勻後與甲醇以 80 : 20 (v/v) 之比例混勻 , 以孔徑 0.45 μ m 之濾膜過濾 , 取濾液作移動相溶液。

人工甘味劑檢驗方法

2.2.4. 標準溶液之調製：

取糖精（標準品或試藥級）於 120 °C，乾燥 4 小時後精確稱取 200 mg，溶於乙醇使成 100 ml 之溶液。

2.2.5. 檢液之調製：

精稱檢體約 20 ~ 40 g，必要時研碎或切碎之，加水約 150 ml，在溫水浴上放置 2 小時，時時攪拌，再加水定容至適量後過濾，取濾液置入分液漏斗中，加 10 % 鹽酸使呈酸性，再加氯化鈉至飽和後，以每次取濾液半量（或全量）之醋酸乙酯萃取三次，合併萃取液，續以每次 5 ml 之氯化鈉飽和溶液洗滌二次後，再以無水硫酸鈉脫水過濾，置於水浴上蒸乾，加乙醇溶解定容，使其濃度約為每 ml 含有 2 mg 糖精，供作檢液。

2.2.6. 定量：

2.2.6.1. 高速液相層析儀之條件：

分離管： μ -Bondapak C₁₈，內徑 3.9 mm × 30 cm。

移動相溶液：依 2.2.3. 節所調製之溶液。

流速：1.5 ml/min。

檢出器：紫外部檢出器。

記錄器速度：0.25 cm/min。

2.2.6.2. 鑑別試驗及含量測定：

檢液及標準溶液各取 5 μ l，分別注入液相層析儀，就檢液所得波峰之滯留時間，分別與標準溶液比較鑑別之。並由適量檢液所得之峰高或面積（Peak height or area），依另取之標準溶液按上述方法作成檢量線，求出檢體中糖精之含量。

備註：定量適用範圍：乾話梅、乾鹽金棗、乾話李、糖尿病用食品、低熱量食品。

3. 參考文獻：

1. 日本衛生試驗法註解（1973）。
2. 日本衛生試驗法註解（1980）。
3. 谷村顯雄，食品添加物の分析（Ⅱ）（1970）。
4. Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 68, No. 7, July 1979.