

食品中調味劑之檢驗方法－阿斯巴甜之檢驗

Methods of Test for Flavoring Agents in Food - Test of Aspartame

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中阿斯巴甜之檢驗^(註 1)。

2. 檢驗方法：

2.1. 薄層層析法(Thin Layer Chromatography)：適用於食品中阿斯巴甜之鑑別試驗。

2.1.1. 裝置

2.1.1.1. 展開槽

2.1.1.2. 攪拌均質機

2.1.1.3. 離心機：轉速可達 3000 rpm 者。

2.1.1.4. 紫外燈：具 365 nm 之波長。

2.1.2. 試藥

甲醇、醋酸、螢光標示劑(Fluorescamine)、丙酮等均採用試藥特級。水均使用蒸餾水製造器處理過之蒸餾水。

2.1.3. 器具及材料：

2.1.3.1. 毛細管或微量吸管

2.1.3.2. 矽膠薄層板：使用含 5%石膏或其他適量黏著劑之 200 mesh 左右矽膠製成 0.25~0.3 mm 之厚度，使用前於 110°C 加熱 30 分鐘活化後，置於乾燥器內冷卻備用，若購自市售者應慎選分析能力佳且無螢光者。

2.1.4. 展開溶媒：1%醋酸：甲醇(60:40, v/v)

2.1.5. 螢光標示液之調製：

稱取 30 mg 螢光標示劑溶於丙酮使成 100 mL。

2.1.6. 50%甲醇溶液：甲醇與水等容量混合。

2.1.7. 標準溶液之調製

精確稱取阿斯巴甜 100 mg 溶於 50%甲醇溶液使成 100 mL 為標準原液。

再量取標準原液以 50%甲醇溶液稀釋至 50~250 ppm 為標準溶液。

2.1.8. 檢液之調製

2.1.8.1. 液狀檢體

精確稱取檢體 20 g 以 50% 甲醇溶液定容至 100 mL 供作檢液。

2.1.8.2. 固狀及半固狀檢體

精確稱取檢體 20 g 加入 50% 甲醇溶液 40 mL 攪拌均質 3~5 分鐘後，再以 50% 甲醇溶液定容至 100 mL 混合均勻後以 3000 rpm 離心 5 分鐘取上層液供作檢液。

2.1.8.3. 含油脂檢體

精確稱取檢體 20 g 加入甲醇 50 mL 攪拌均質加水定容至 100 mL 混合均勻後以 3000 rpm 離心 5 分鐘取上層液供作檢液。

2.1.9. 鑑別試驗

沿矽膠薄層板下端 2 cm 之橫向每隔 1 cm 分別點上直徑約 0.3 cm 圓點之檢液及標準溶液，風乾後置入盛有展開溶媒之展開槽內，展開溶媒浸沒薄層板下端約 0.5~1 cm 處予以展開，俟展開溶媒上昇約 12 cm 後，取出風乾以螢光標示液噴霧。並放置 5 分鐘後，在紫外燈(365 nm)照射下，觀察檢液上昇斑點之 R_f 值及螢光反應，與阿斯巴甜標準溶液斑點比較鑑別之。

2.2. 高效液相層析法(High Performance Liquid Chromatography)：適用於阿斯巴甜之鑑別試驗及含量測定。

2.2.1. 裝置：高效液相層析儀^(註 2)具有波長 210 nm 紫外光檢出器者。

2.2.2. 試藥：

甲醇採用液相層析級、磷酸二氫鉀、氫氧化鈉、鹽酸、醋酸鈉均採用試藥特級，離子交換樹脂(Amberlite CG-120-P)。水均使用蒸餾水製造器處理過之蒸餾水及經離子交換處理過之去離子水。

2.2.3. 器具及材料：

2.2.3.1. 層析管柱：淨化用，內徑 10 mm 長 300 mm 玻璃材質。

2.2.3.2. 濾膜：孔徑 0.45 μ m Polyvinylidene difluoride 材質。

2.2.4. 離子交換樹脂淨化管之製備

取離子交換樹脂 20 g 以 1N NaOH 溶液 100 mL 洗淨後，用水洗至 pH 7~8，再用甲醇 200 mL 及水 200 mL 洗滌之，再加 1N HCl 100 mL 使其

成 H 型，再用水洗至洗液呈中性為止。取製備後之離子交換樹脂填充於層析管柱約 5 cm 高即得離子交換樹脂淨化管。

2.2.5. 移動相溶液之調製

取 0.02M 磷酸二氫鉀溶液稱取磷酸二氫鉀 2.72 g 溶於去離子水使成 1000 mL 與甲醇以 70：30 (v/v) 之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液作移動相溶液。

2.2.6. 塩酸·甲醇溶液：2N 塩酸與甲醇等容量混合。

2.2.7. 檢液之調製

取 2.1.8. 各節之檢液 50 mL，鹽漬物及煮熟貝類等之鹽分含量較高之檢體則取 25 mL 加 50% 甲醇溶液使成 100 mL，再分取 50 mL 注入 2.2.4. 節淨化管後，調整流速至 3~4 mL/min，以 50% 甲醇溶液 10 mL 清洗淨化管，再加入塩酸·甲醇溶液 70 mL 以相同流速溶出阿斯巴甜，溶出液加入飽和醋酸鈉溶液 20 mL，再加水至 100 mL 供作定量用檢液。

2.2.8. 定量

2.2.8.1. 液相層析儀條件

分離管：C₁₈ column，內徑 4 mm，長 25 cm，顆粒大小 10 μ。

移動相流速：同 2.2.5. 節。

流速：1.5 mL/min

檢出器：紫外光檢出器 210 nm

記錄器速度：0.2 cm/min

2.2.8.2. 鑑別試驗及含量測定

標準溶液及檢液各取 5 μL 分別注入高效液相層析儀中，由波峰之滯留時間分別與標準溶液比較鑑別之，並就波峰面積依檢量線求出檢體中的阿斯巴甜之含量。

註 1：薄層層析法之最低檢出量為 10 ppm，高效液相層析法之最低檢出量為 10 ppm。

註 2：薄層層析法之最低偵測極限以標準液計為 20 ng，高效液相層析儀之最低偵測極限以標準液計為 10 ng。