ว กรมวิทย พ 2544 ; 43 (1) : 1 - 7

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะซีซัลเฟม-เค และซัคคารินในเครื่องดื่มบางชนิด โดยวิธีไดอะไลซีสและเอชพีแอลซี

Method Development for Determination of Acesulfame-K and Saccharin in Some Beverage By Dialysis and HPLC Method

ยุพา ฉันทปัญญารัตน์
ใจภักดิ์ พราหมณ์พันธุ์
เสกสรร ทองโพธิ์

Yupa Chantapanyarat
Chaipark Prampun
Saeksan Tongpo

กองอาหาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Division of Food
Department of Medical Sciences
Tiwanond Road . Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ: ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล อะซีซัลเฟม-เค และซัคคารินในเครื่องดื่มบางชนิด ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟชนิดของเหลวความดันสูงในระบบ isocratic โดยการเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีไดอะไลซีส ก่อนการฉีดเข้าคอลัมน์ TSK-Gel 80Ts เฟสเคลื่อนที่ เป็นส่วนผสมของ 0.01M KH_2PO_4 และ acetronitrile ในอัตราส่วน 90/10 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 235 นาโนเมตร ผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธี สารทั้งสองมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นตั้งแต่ 5- 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับพื้นที่ใต้พีคเข้าใกล้ 1.0000 การทดสอบความถูกต้องของวิธีพบว่า ได้ร้อยละการคืนกลับเมื่อเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 50 - 150 ไมโครกรัมต่อกรัม ของอะซีซัลเฟม-เค และซัคคาริน เท่ากับ 103.0 $\pm$ 4.1 และ103.1 $\pm$ 3.9 ผลการทดสอบความแม่นยำให้ค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของอะซีซัลเฟม-เค 113 ไมโครกรัมต่อกรัม และ ซัคคาริน 74 ไมโครกรัมต่อกรัม เท่ากับ 1.41 และ 1.99 ตามลำดับ ค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานได้ของสารทั้งสองในตัวอย่างเครื่องดื่มมีค่า 10 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยให้ค่าความถูกต้องและแม่นยำเป็นที่น่าพอใจ

ABSTRACT : Method for determination of acesulfame - K and saccharin in some beverages were developed by using High Performance Liquid Chromatograph in isocratic system. Purification of samples was performed by dialysis method before injection through column TSK-Gel 80Ts . The mobile phase used in HPLC was the mixture of 0.01M. KH_2PO_4 and acetronitrile (90/10) at flow rate 1 ml/min. Analytes were detected with UV detector at 235 nm. Method validation data showed the correlation coefficient between concentration of standards at the range 5 - 25 µg / ml and peak areas of both compounds were closed to 1.0000. The accuracy of the method which expressed as recovery of standards of acesulfame - K and saccharin adding to samples at 50-150 ug/gm were 103.0 $\pm$ 4.1 and 103.1 $\pm$ 3.9 . Relative standard deviation from precision test of acesulfame - K 113 ug/gm and saccharin 74 ug/gm were 1.41 and 1.99 . respectively. The limit of quantitation of those two compounds in beverages were 10 ug/gm which produce good accuracy and precision.

Key words : dialysis, acesulfame-K, saccharin, HPLC

บทนำ

ซัคคาริน (Saccharin) เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ใช้กันมานานแล้ว มักจะอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมและเกลือแคลเซี่ยม มีความหวานเป็น 200 - 700 เท่าของน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นสูงๆ จะมีรสขม หวานติดลิ้น เนื่องจากซัคคารินไม่ถูกเผาผลาญในร่างกายจึงไม่ให้พลังงาน แม้ว่าในปัจจุบันซัคคารินเป็นวัตถุให้ความหวานที่ยังไม่แน่ใจในเรื่องความปลอดภัย แต่ก็มีการใช้แพร่หลายมากกว่า 90 ประเทศในอาหารและเครื่องดื่มบางชนิดเช่น แยม เยลลี่ และใช้ร่วมกับแอสปาร์เทม (Aspartame) ในเครื่องดื่ม The FAO / WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) ได้กำหนดค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ของซัคคารินเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน (Giese , 1993)

อะซีซัลเฟม-เค (Acesulfame-K) เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในอาหารและเครื่องดื่ม อยู่ในรูปของเกลือโพแทสเซี่ยม มีความหวานประมาณ 130-200 เท่าของน้ำตาลซูโครส อาจจะผสมกับวัตถุให้ความหวานตัวอื่นเพื่อเพิ่มความหวาน เช่น ผสมกับแอสปาร์เทมในอัตราส่วน 1:1 หรือผสมกับโซเดียมซัยคลาเมต พบว่าเมื่อผสมอะซีซัลเฟม-เคและแอสปาร์เทมเข้าด้วยกันจะเพิ่มความหวานเป็น 300 เท่าของน้ำตาลซูโครส จากการศึกษาความเป็นพิษพบว่ามีความปลอดภัยสูง JECFA กำหนดค่า ADI ของอะซีซัลเฟม-เค เท่ากับ 15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน (Giese , 1993)

การวิเคราะห์อะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินในเครื่องดื่มทำได้หลายวิธี เช่น สามารถหาปริมาณซัคคาริน ด้วยวิธี Spectrophotometry (Flores *et al* ,1973) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้เวลา มีขั้นตอนยุ่งยาก ซับซ้อนและใช้สารเคมีที่มีอันตราย สำหรับอะซีซัลเฟม-เค มีรายงานวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer เช่นกัน (Sastry *et al* ,1995) มีขั้นตอนการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง และใช้ basic dye Sevron Blue 5G ซึ่งเป็นสารเคมีที่หาได้ยากในห้องปฏิบัติการทั่วไป จากวิธีของ Argoudelis ,1984 เป็นการหาปริมาณซัคคาริน กรดเบนโซอิค แอสปาร์เทมและแคฟเฟอีน โดยวิธีเอชพีแอลซีในระบบ isocratic โดยที่ซัคคารินจะแยกออกมาใกล้ solvent front ทำให้ค่าที่ได้ไม่ดี และในกรณีที่ตัวอย่างมีสารอะซีซัลเฟม-เคผสมกับซัคคาริน จะไม่สามารถแยกสารทั้งสองให้ออกจากกันได้ และวิธีนี้เป็นการฉีดตัวอย่างเข้าคอลัมน์โดยตรง โดยไม่ผ่านการทำตัวอย่างให้บริสุทธิ์ ทำให้อายุการใช้งานของคอลัมน์สั้นลง

ดังนั้นเพื่อให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณอะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินในตัวอย่างเครื่องดื่มได้ในการวิเคราะห์ครั้งเดียว จึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารทั้งสองชนิดดังกล่าว โดยศึกษาสภาวะของเครื่องมือในการแยกสารออกจากกันตามวิธีของ Prodolliet and Bruelhart ,1993 และศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์ก่อนฉีดเข้าคอลัมน์ โดยวิธีไดอะไลซีส (Dialysis) ตามวิธีของ Moriyasu *et al* ,1991 ซึ่งเป็นวิธีที่ให้สารที่มีโมเลกุลเล็กซึมผ่านเซลลูโลสเมมเบรน

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

HPLC -Thermo Separation Products Isocratic System consists of Solvent Delivery System model CM 3200, Variable UV-VIS Detector model SM 3200, Injector Rheodyne 7125 with 20 µl loop . Column TSK-Gel ODS 80Ts

(6 mm x 150 mm , 5 μm) TOSOH, JAPAN. attached with guard column , mobile phase: 0.01M KH_2PO_4 / CH_3CN = 90/10, flow rate: 1 ml/min, detector: UV 235 nm. , range: 0.01 AUFS, injection volume: 20 μl , chart speed: 0.5 cm/ min and calculation type: base on area. Ultra sonic bath. Dialysis membrane (Cellu Sep Regenerated Cellulose Tubular Membrane, flat width 45 mm. wall thickness 20 μm , MW.12,000-14,000), Clarification kits for filter solvent and sample Nylon 66 membrane, Alltech, pore size 0.45 μm, diameter 47 mm for filter solvent and diameter 13 mm for filter sample.

สารมาตรฐานและสารเคมี

Acesulfame-K . Purity 98 % Wako Pure Chemical Industries .Ltd.

Sodium Saccharin . Purity 99 % Wako Pure Chemical Industries .Ltd.

Acetronitrile (CH_3CN) HPLC grade, Potassium dihydrogen phosphate AR.(KH_2PO_4), Sodium chloride (NaCl) and Phosphoric acid (H_3PO_4)

วิธีเตรียมสารมาตรฐาน

สารละลายผสมของอะซีซัลเฟม-เคและซัคคาริน ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร : ชั่งสารมาตรฐานอะซีซัลเฟม-เคและโซเดียมซัคคาริน 0.05 กรัม และ 0.0658 กรัม (พอดีกับซัคคาริน 0.05 กรัม) ตามลำดับ ละลายด้วยน้ำกลั่นลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีเตรียมเฟสเคลื่อนที่

ชั่ง KH_2PO_4 1.36 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรใน volumetric flask ผสมสารละลายบัฟเฟอร์ KH_2PO_4 กับ CH_3CN ในอัตราส่วน 90/10 ลงในกระบอกตวงที่มีจุกปิด เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่าน Nylon membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร โดยใช้ clarification kit สำหรับกรอง solvent degas ด้วย ultra sonic bath

วิธีเตรียมสารละลายไดอะไลซีส (Dialysis solution)

Inner solution : ชั่ง NaCl 100 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติม 85% H_3PO_4 11.8 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

Outer solution : ชั่ง 85% H_3PO_4 11.8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้นในการทดสอบวิธีวิเคราะห์ ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวแทนเครื่องดื่มที่เป็น soft drink เช่น น้ำอัดลม เครื่องดื่มไดเอท เครื่องดื่มแต่งกลิ่นอื่นๆที่ไม่มีส่วนผสมของไขมันหรือโปรตีนเป็นต้น

วิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน

ปิเปต stock standard mixture solution ของอะซีซัลเฟม-เค และซัคคาริน ปริมาตร 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 5 ใบ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้มีความเข้มข้น 5, 10, 15,

20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายนี้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแต่ละตัวกับพื้นที่ใต้พีค

การเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์โดยวิธีไดอะไลซีส

ตัดแผ่นเซลลูโลสเมมเบรนให้มีความยาว 15-20 ซม. นำไปแช่ในน้ำ มัดปลายให้เป็นถุงด้วยเส้นยางไม่มีสีให้แน่น ชั่งตัวอย่างประมาณ 20 กรัมใส่ลงในถุง เติม inner solution 20 มิลลิลิตร รัดปากถุงด้วยเส้นยางให้แน่น เขย่าให้เข้ากัน ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร เติม outer solution จนถึงขีดประมาณ 190 มิลลิลิตร ปิดปากกระบอกตวงด้วยแผ่น parafilm ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน แล้วจึงปรับปริมาตรด้วย outer solution จนครบ 200 มิลลิลิตร เขย่า นำถุงเมมเบรนที่ใส่ตัวอย่างทิ้ง เขย่าอีกครั้งหนึ่ง กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ด้วย clarification kit สำหรับกรองตัวอย่างลงในขวด vial นำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy)

ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยหาค่าประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ (%Recovery) เตรียมตัวอย่างเพื่อทำไดอะไลซีสด้วยวิธีที่กล่าวข้างต้น ใช้ตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้นในการทดสอบ ก่อนเติม inner solution ให้เติมสารละลายมาตรฐาน อะซีซัลเฟม-เคและซัคคาริน ที่ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างเท่ากับ 50,100 และ 150 ไมโครกรัมต่อกรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ คำนวณความเข้มข้นจากพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยเทียบกับกราฟมาตรฐาน หาประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

ทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์โดยทำ Repeatability test ของสารมาตรฐานอะซีซัลเฟม-เคและซัคคาริน ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำ Replicates analysis of spiked samples ในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้น ที่ความเข้มข้น 113 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 74 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับโดยทำ 7 ซ้ำ เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีไดอะไลซีส คำนวณหาค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน

การทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานได้ (Limit of quantitation)

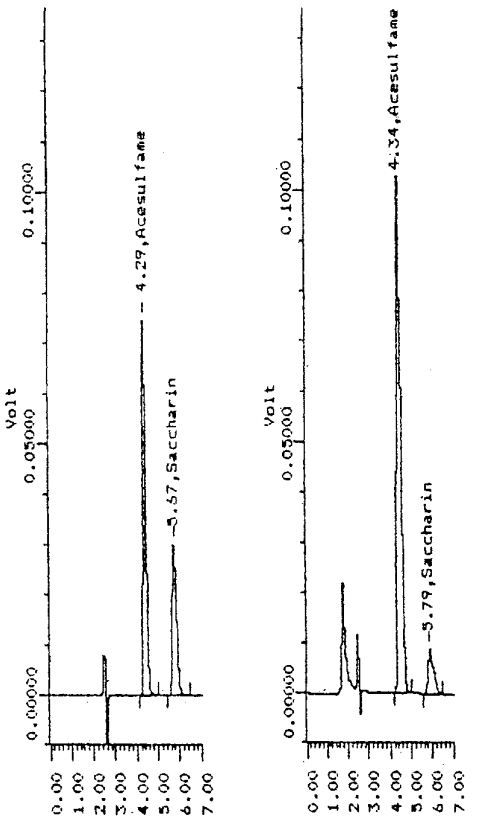
ทดสอบด้วยการทดลองเติมสารละลายมาตรฐาน อะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินที่ความเข้มข้นน้อยๆลงในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้นและเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีไดอะไลซีส จนผลวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision) เป็นที่ยอมรับ ทำซ้ำ 5 ครั้ง หาประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน

การทดสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของอะซีซัลเฟม-เค ซัคคาริน แอสปาร์เทม แคฟเฟอีน กรดเบน โซอิค และกรดซอร์บิค ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ดูความแตกต่างของเวลาในการแยกสารออกมา (retention time)

ผล

จากสภาวะเครื่องมือดังกล่าว สามารถแยกสารอะซีซัลเฟม-เคและซัคคาริน ออกจากกันได้ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมอะซีซัลเฟม-เค และซัคคาริน (a) และ ตัวอย่าง (b)

จากการทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ โดย plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับพื้นที่ใต้พีค ค่า regression line ของสารทั้งสองมีค่า Y(area) = 0.200+0.00018 x X ,ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.307 และ Y(area) = 0.196+0.000377x X ,ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.310 ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) มีค่า 0.9996 และ 0.9996 ตามลำดับ ช่วงของการวิเคราะห์มีค่า 5-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยเติมสารละลายมาตรฐานอะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินลงในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้น เตรียมตัวอย่างโดยวิธีไดอะไลซีส ทดสอบ 3 ความเข้มข้นๆละ 3 ซ้ำ ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารอะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้น

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม	% Recovery ± SD (n = 3)	
(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	อะซีซัลเฟม- เค	ซัคคาริน
5	101.9 ± 0.4	103.2 ± 0.2
10	101.4 ± 5.0	101.4 ± 4.8
15	105.8 ± 6.9	104.8 ± 6.8
เฉลี่ย	103.0 ± 4.1	103.1 ± 3.9

ผลการทดสอบความแม่นยำโดยวิธี Repeatability test ของสารละลายมาตรฐานอะซีซัลเฟม - เคและซัคคาริน ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน 1.70 และ 2.05 และทำ replicates analysis of spiked samples ของตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้นที่ความเข้มข้น 113 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 74 ไมโครกรัมต่อกรัม ทดสอบ 7 ซ้ำ ให้ค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนเท่ากับ 1.41 และ 1.99 ตามลำดับ

ผลการทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานได้ของอะซีซัลเฟม-เคและ ซัคคารินในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้น มีค่า10 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยให้ค่าร้อยละของประสิทธิภาพวิธีและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 114.1 ± 7.64 และ 108.1 ± 8.17 ค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน 6.69 และ 7.56 ตามลำดับ

ผลการทดสอบความจำเพาะของวิธีพบว่าอะซีซัลเฟม-เค ซัคคาริน แคฟเฟอีน กรดเบนโซอิค กรดซอร์บิคและ แอสปาร์เทม สามารถแยกพีคออกมาในเวลา 4.3 , 5.7, 10.3, 13.3, 20.0 และ 22.5 นาทีตามลำดับ โดยใช้สภาวะเครื่องมือที่ทดสอบดังกล่าวข้างต้น

วิจารณ์

ทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะซีซัลเฟม-เคและซัคคารินในเครื่องดื่ม ด้วยเครื่อง HPLC ในระบบ isocratic เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง เหมาะสมกับเครื่องมือที่มีอยู่ จากวิธีของ Prodolliet and Bruelhart,1993 เป็นการเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วย Carrez solution ซึ่งจะตกตะกอนเฉพาะสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่เช่นไขมันและโปรตีน ดังนั้นสารประกอบอื่นๆที่มีโมเลกุลเล็กยังคงมีอยู่ ทำให้มีสารปนเปื้อนสูงในตัวอย่าง (impurities) แต่วิธีเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีไดอะไลซีสของ Moriyasu *et al*, 1991 เป็นวิธีที่ให้สารในตัวอย่างเฉพาะที่มีโมเลกุลเล็กซึมผ่านเซลลูโลสเมมเบรนซึ่งจะมี pore size ต่างๆกัน ให้เลือกใช้ตามความต้องการ วิธีนี้จึงสามารถลดสารปนเปื้อนในตัวอย่างลงได้ ราคาถูก มีความรวดเร็ว สามารถเตรียมตัวอย่างได้ครั้งละมากๆ เพิ่มอายุการใช้งานของคอลัมน์ และไม่ต้องสัมผัสสารเคมีที่มีอันตราย จากสภาวะเครื่องมือนี้สามารถแยกสารทั้ง 2 ออกจากกันได้ดี โดยที่อะซีซัลเฟม- เค และ ซัคคาริน แยกออกจากคอลัมน์ในเวลา 4.3 และ 5.7 นาที ตามลำดับ

วิธีนี้มีความจำเพาะของวิธีทดสอบดี จากการเติมสารละลายแคฟเฟอีน กรดเบนโซอิค กรดซอร์บิค และแอสปาร์เทม สามารถแยกออกจากคอลัมน์ในเวลา 10.3 , 13,3 , 20.0 และ 22.5 นาที ตามลำดับ โดยที่แอสปาร์เทมซึ่งเป็นวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลที่นิยมผสมกับสารทั้ง 2 ในเครื่องดื่มสามารถแยกออกได้เช่นกัน แต่ให้ sensitivity ต่ำมาก ไม่เหมาะที่จะนำมาหาปริมาณด้วยสภาวะเครื่องมือนี้ เนื่องจากสารประกอบที่ได้กล่าวข้างต้น มักจะพบในตัวอย่าง ดังนั้นเมื่อพีคของอะซีซัลเฟม-เค และ ซัคคาริน แยกออกมาแล้ว จะต้องรอให้พีคของสารประกอบอื่นดังกล่าวที่มีในตัวอย่างเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ก่อน จึงจะฉีดตัวอย่างต่อไป มิฉะนั้นจะเกิดการซ้อนกัน (overlap) ของพีคต่างๆ ทำให้ไม่สามารถหาปริมาณได้

จากผลของ Method validation ให้ค่าความถูกต้องและแม่นยำในช่วงที่ยอมรับ โครมาโตแกรมมี baseline ดี แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีไดอะไลซีสเป็นวิธีที่ดี ในกรณีที่ตัวอย่างมีปริมาณสารน้อยๆ ก็สามารถเพิ่มตัวอย่างในการวิเคราะห์ได้ตามต้องการ โดยการเพิ่มความยาวของเซลลูโลสเมมเบรนที่ใช้บรรจุตัวอย่าง โดยที่สารรบกวนต่างๆที่มีโมเลกุลใหญ่จะไม่ออกมากับตัวอย่างที่วิเคราะห์ ซึ่งจะยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์ให้มากขึ้น ลดค่าใช้จ่ายลง เนื่องจากคอลัมน์มีราคาแพง

สรุป

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารให้ความหวานแทนน้ำตาล อะซีซัลเฟม - เค และ ซัคคาริน ในตัวอย่างน้ำหวานเข้มข้น โดยวิธีไดอะไลซีส และ

เอชพีแอลซี ซึ่งให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง สามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณในเครื่องดื่มประเภท soft drink เช่น น้ำอัดลม เครื่องดื่มไดเอท หรือเครื่องดื่มแต่งกลิ่นอื่นๆที่ไม่มีส่วนผสมของโปรตีนและไขมัน เป็นต้น โดยที่การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีไดอะไลซีสนี้สามารถเตรียมได้ครั้งละมากๆ เหมาะสำหรับงานประจำหรืองานบริการ ที่ต้องการความรวดเร็วและมีความถูกต้องของผลวิเคราะห์สูง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Mr. Toshiyuki Kawaguchi JICA Expert under Project for Strengthening of Food Sanitation Activities. ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านวิธีวิเคราะห์ การแก้ปัญหาตลอดจนให้คอลัมน์เพื่อใช้ในงานเครื่องดื่ม

เอกสารอ้างอิง

Argoudelis CJ. Isocratic Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Determination of Aspartame and other Food Additives in Soft Drinks. J. Chromatogr. 1984 ;303 : 256-262.

Flores EF , Johnson AR , Leber B, et al Colorimetric Determination of Saccharin in Foods. Journal of the AOAC. 1973 ; 56(6) : 1411-1414.

Giese JH. Alternative Sweeteners and Bulking Agents. An overview of their properties function and regulatory status. Food Technology. 1993 January : 114-126.

Moriyasu T, Saito K, Nakazato M, et al. Determination of Acesulfame-K , Saccharin and Aspartame in Various Foods. Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health. 1991; 37(2) : 97-102.

Prodolliet J , Bruelhart M. Determination of Acesulfame-K in Foods. Journal of AOAC International . 1993 : 76(2): 268-274.

Sastry CSP, Srinivas KR ,Krishna Prasad KMM , et al. Rapid, Routine Method for the Analysis of the Non-nutritive Sweeteners in Foodstuffs. Analyst. 1995 : 120 : 1793.