

การวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทมในเครื่องดื่ม
โดยวิธี HPLC

Determination of Aspartame in Beverages by HPLC

สุวรรณี อธิภาพธรรมกุล
ยุพา จันทปัญญารัตน์

Suvanee Teerapapthamkul
Yupa Chantapanyarat

กองวิเคราะห์อาหาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Division of Food. Analysis
Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

ศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์แอสปาร์เทมในเครื่องดื่มโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้ column Nova-Pak C18, mobile phase เป็นสารผสมของ 0.0125 M. KH₂PO₄ กับ acetonitrile (85:15) โดยใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร จากการทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของน้ำอัดลมและเครื่องดื่มผงได้ค่าเฉลี่ยร้อยละ 104.16 ± 2.28 และ 78.64 ± 1.04 และค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน ร้อยละ 2.19 และ 1.32 ตามลำดับ กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทมและพื้นที่ใต้ peak เป็นเส้นตรงในช่วงของเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9997 ค่าความถูกต้องและความแม่นยำของการทดสอบในน้ำอัดลมในช่วงของความเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ

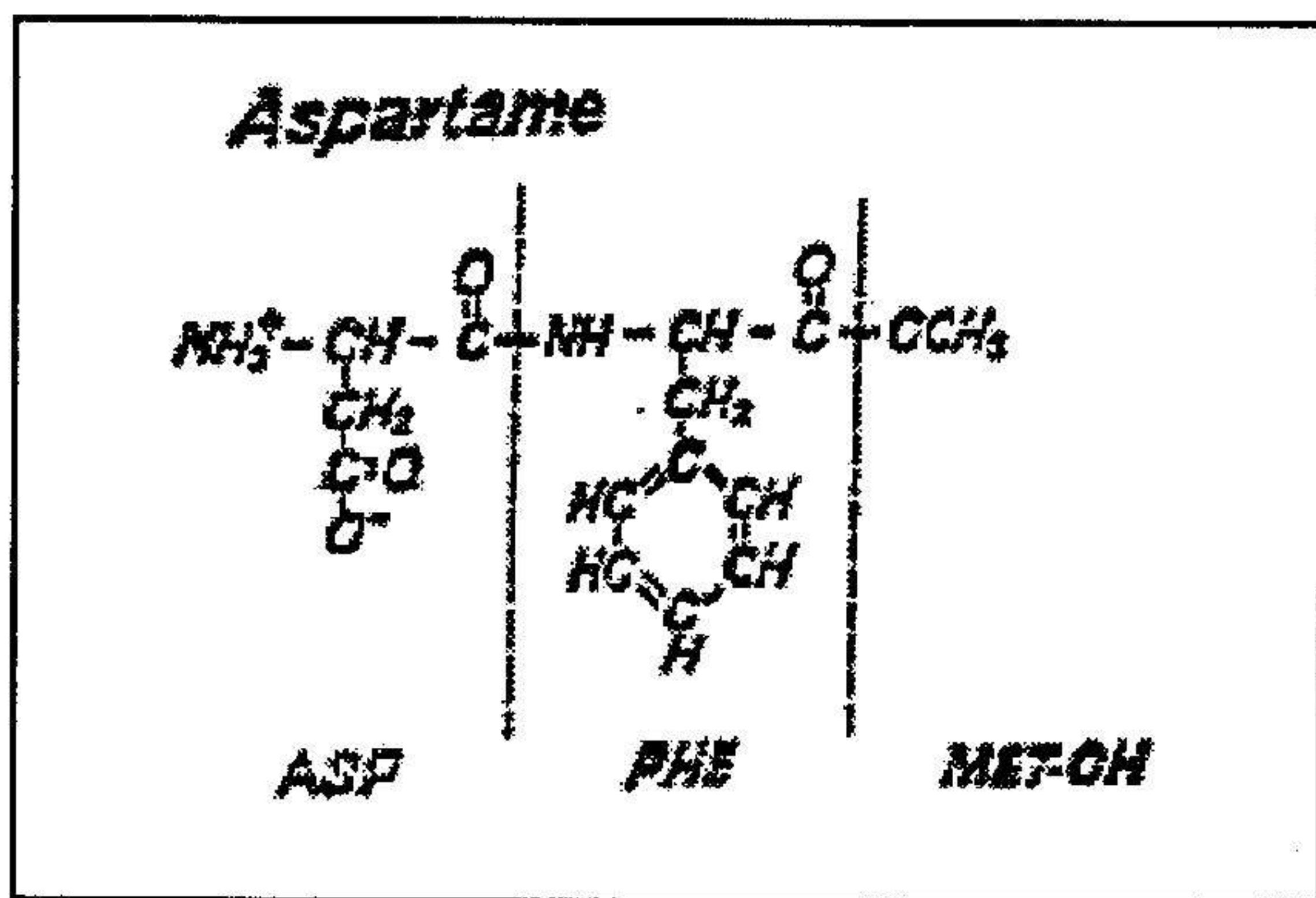
ABSTRACT

To study and develop method for determination of Aspartame in beverage by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using column Nova-Pak C18, mobile phase is a mixture of 0.0125 M. KH₂PO₄ and acetonitrile (85:15) with UV detector at wavelength of 214 nanometre. The results of percentage recovery at the concentration of 20 - 100 ug/ml in carbonated beverage and powder beverage were 104.16±2.28 and 78.64 ±1.04 and relative standard deviation (RSD) were 2.19% and 1.32 %, respectively. The relationship between the concentration of aspartame and peak area was linear in the range of 20-100 ug/ml with the correlation coefficient (r) of 0.9997. The results of accuracy and precision in testing carbonated beverage within the range of 20 - 100 ug/ml were good.

Key words : aspartame, beverage, HPLC

บทนำ

แอสปาร์เทม เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ปัจจุบันมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอาหารและเครื่องดื่มที่ต้องการจำกัดปริมาณน้ำตาล และจำหน่ายปลีกเพื่อใช้แทนน้ำตาล ถูกค้นพบในปี 1965 โดย GD Searle(1) ในประเทศสหรัฐอเมริกา แอสปาร์เทมเป็นสารประกอบระหว่างกรดอะมิโน 2 ชนิด คือ L-aspartic acid และ L-phenylalanine สูตรโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างแอสปาร์เทม

มีความหวานเป็น 180-200 เท่าของน้ำตาลซูโครส มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ละลายได้ในน้ำ แอสปาร์เทมสามารถถูกเผาผลาญได้เช่นเดียวกับโปรตีน จึงเป็นสารที่ให้พลังงานได้ แต่เนื่องจากให้ความหวานสูงมาก เมื่อมีการใช้ในอาหารหรือเครื่องดื่มจึงใช้ในปริมาณน้อยเหมาะที่จะนำไปใช้ในอาหารหรือเครื่องดื่มที่ให้พลังงานต่ำ ข้อเสียของการนำมาใช้คือแอสปาร์เทมไม่เสถียรและสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อนหรืออยู่ในสภาพความเป็นกรดต่างไม่เหมาะสมจึงทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการให้ความหวาน แอสปาร์เทมแห้งสามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิ 40 °C โดยมีการสลายตัวเพียงเล็กน้อย สารละลายของแอสปาร์เทมจะเสถียรที่สุดที่ pH3-5 ถ้าสูงกว่า 5 จะเกิดการสลายตัวจับกันเป็นวงให้สาร

Diketopiperazine (2, 3) ซึ่งไม่เป็นพิษ (4) นอกจากนั้น สารละลายแอสปาร์เทมสามารถเกิดการสลายตัวอย่างช้า ๆ ในรูป aspartyl-phenylalanine (2, 3) ซึ่งเมื่อ สลายตัวแล้วจะหมดความหวานทำให้ผู้บริโภคทราบได้

ในด้านความปลอดภัย แอสปาร์เทมเป็นสารให้ความหวานที่มีการศึกษาข้อมูลทางด้านความปลอดภัยแล้ว ในปี 1981 คณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้อนุมัติให้ใช้สารนี้ในอาหารและเครื่องดื่ม (5) ในปี 1985 American Medical Association Council on Scientific Affairs ได้ยืนยันว่า คนปกติสามารถบริโภคแอสปาร์เทมได้อย่างปลอดภัย (6) องค์การอนามัยโลกได้กำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) ของแอสปาร์เทมเท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (7) แต่อย่างไรก็ตามการบริโภคแอสปาร์เทมควรที่จะระวังในการใช้ เนื่องจากสารนี้เป็นอันตรายต่อผู้ป่วย Phenylketonuria (PKU) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ร่างกายไม่สามารถเผาผลาญ phenylalanine ทำให้เกิดการสะสมของสารนี้ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อสมองผู้ป่วย phenylketonuria จึงควรหลีกเลี่ยงการใช้แอสปาร์เทม

เนื่องจากแอสปาร์เทมเป็นสารให้ความหวานชนิดใหม่ ที่มีการนำมาใช้ในประเทศไทยจึงจำเป็นต้องหาวิธีตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม เพื่อให้ทราบปริมาณที่ใช้ในอาหารหรือเครื่องดื่มเพื่อคุ้มครองผู้บริโภค การวิเคราะห์หาปริมาณแอสปาร์เทมโดยใช้ Fluorometric Method (8) ซึ่งเป็นวิธีทางยา ใช้ได้เฉพาะกับเครื่องดื่มชนิดน้ำสำหรับเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของโปรตีนไม่สามารถหาปริมาณแอสปาร์เทมโดยวิธีนี้เนื่องจากจะทำให้เกิด positive error ค่าที่ได้จะสูงกว่าค่าจริง จึงได้ศึกษาเพื่อพัฒนาและทดสอบวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมให้มีความถูกต้องและแม่นยำสูง โดยเลือกทดสอบและดัดแปลงวิธีของ Prodoliet และคณะ (9) โดยวิธี HPLC

วัตถุประสงค์และวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

acetonitrile HPLC grade (Merck)

0.0125 M potassium dihydrogen phosphate (Merck) buffer pH 3.50 (ปรับความเป็นกรด-ด่างด้วย 5% phosphoric acid)

Carrez I solution : 3.6 กรัม potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate (Merck) ละลายใน น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

Carrez II solution : 7.2 กรัม zinc sulfate heptahydrate (BDH) ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตร ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

สารมาตรฐาน : aspartame (Sigma), caffeine (Fluka), theobromine (Sigma) benzoic acid (Riedel)

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph ของ Thermo Separation Products ประกอบด้วย pump model constaMetric 3200, injector fixed volume 20 ไมโครลิตร, UV detector model spectroMonitor 3200, computing integrator model Lazer 486DX2

Column Nova-Pak C18 (Waters) ขนาด 3.9 X 150 mm

Ultrasonic bath

สภาวะเครื่องมือ

mobile phase ใช้ 0.0125 M KH_2PO_4 (pH 3.5) : acetonitrile (85 : 15) flow rate 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที, UV detector ที่ 214 นาโนเมตร, Chart speed 0.5 เซนติเมตรต่อนาที

การเตรียมตัวอย่างเครื่องดื่ม

1) น้ำอัดลม : ชั่งตัวอย่างซึ่งใส่แก๊สออกจากตัวอย่าง แล้วโดยใช้ ultrasonic bath 5 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน

2) เครื่องดื่มผง : ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร ตั้งบน Water bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 40°C นาน 30 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว แล้วนำไปวางบน Ultrasonic bath นาน 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเติม Carrez I solution และ Carrez II solution อย่างละ 5 มิลลิลิตร (เพื่อตกตะกอนโปรตีน และ สาร interfere substance อื่น ๆ) เขย่าแรง ๆ แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่นกรองผ่านกระดาษกรอง No.1 แล้วกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน

วิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทม ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน แอสปาร์เทม 0.1000 กรัม ละลายใน 10% methanol ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย มาตรฐาน 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ให้ครบด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน นำ สารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์โดยใช้ HPLC สร้างกราฟ มาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอสปาร์เทม กับค่าพื้นที่ใต้ peak

การทดสอบความแม่นยำและความถูกต้องของการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นสูงสุดและต่ำสุดที่กราฟเป็นเส้นตรง

ทดสอบโดยการเติมสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทมในตัวอย่างเครื่องดื่มชนิดน้ำที่ไม่มีส่วนผสมของแอส

ปาร์เทม ให้มีความเข้มข้น 20 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตามขั้นตอน โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ

การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

ทดสอบในตัวอย่าง 2 ชนิด คือ น้ำอัดลมไดเอท และเครื่องดื่มผงชนิดไดเอท เตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตามขั้นตอน 5 ซ้ำ รายงานผลในรูปของค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (Relative Standard Deviation, RSD) ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{SD}{X} \times 100 \\ SD &= \text{Standard Deviation} \\ X &= \text{ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์} \end{aligned}$$

การทดสอบประสิทธิภาพของวิธี (Accuracy)

ทดสอบโดยการนำตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่มีส่วนผสมของ แอสปาร์เทม ในฉลากทั้งชนิดน้ำและชนิดผง เติมสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทมให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตามขั้นตอนที่กล่าวมา 3 ซ้ำ

การรายงานค่า Accuracy รายงานเป็นค่า % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ปริมาณสารที่เติมจริง}} \times 100$$

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ แอสปาร์เทม ในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{R \times A \times V}{10W}$$

R = Response factor (area) จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย แอสปาร์เทม

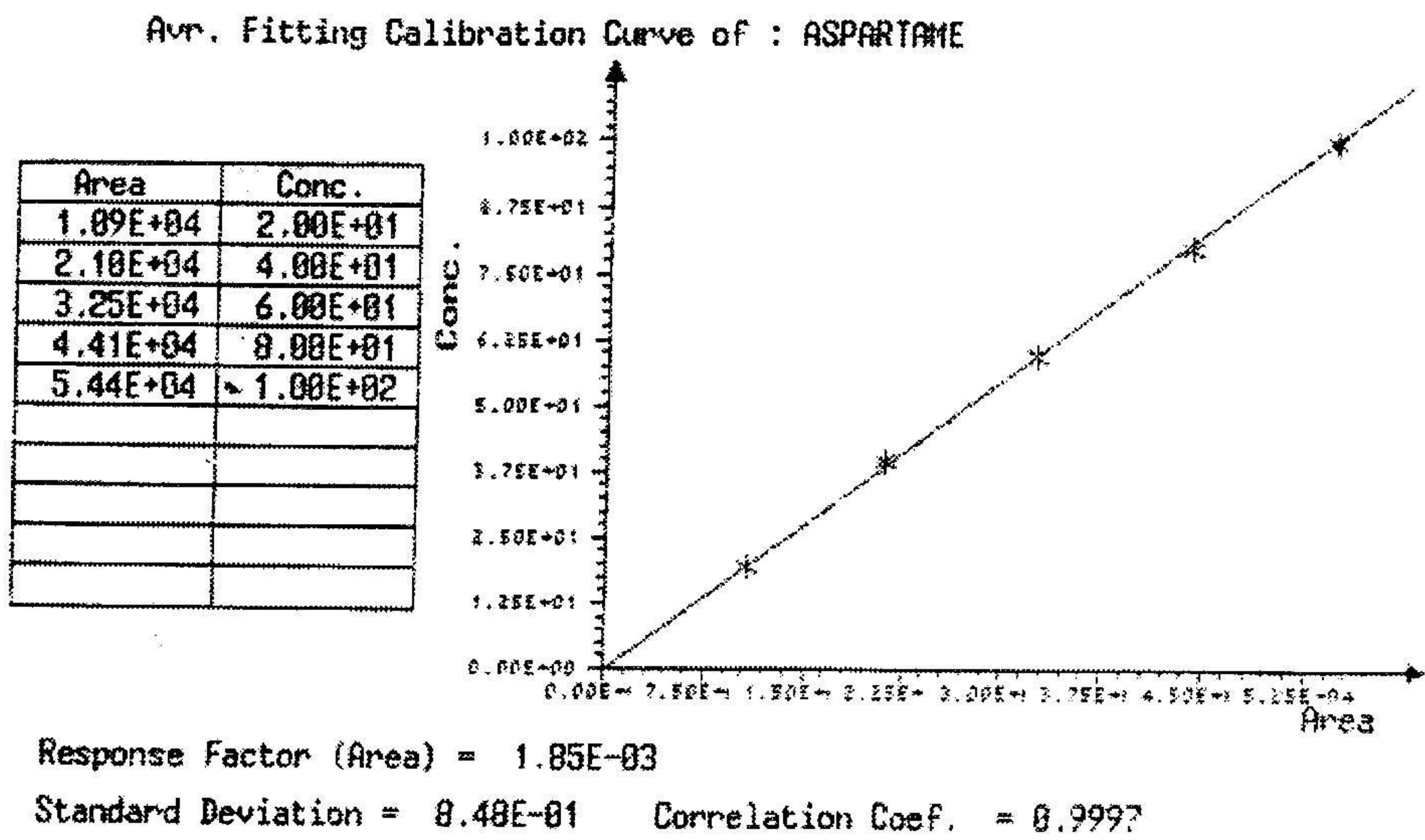
$$\begin{aligned} A &= \text{พื้นที่ใต้ peak (peak area) ของตัวอย่าง} \\ V &= \text{ปริมาตรของตัวอย่างก่อนวัดปริมาณ (มิลลิตร)} \\ W &= \text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)} \end{aligned}$$

ผล

จากการ plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของแอสปาร์เทม ในช่วง 20 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับค่าพื้นที่ใต้ peak เพื่อทดสอบความตรงและช่วงของการวิเคราะห์ พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (Correlation Coefficient, r) เป็น 0.9997 ดังแสดงในรูป 2 และเมื่อทดสอบความแม่นยำและความถูกต้องของการวิเคราะห์ โดยเติมสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทมในเครื่องดื่มชนิดน้ำที่ไม่มีส่วนผสมของแอสปาร์เทมที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 6 ซ้ำ (ตารางที่ 1) ได้ค่า % Recovery เท่ากับ 103.15 ± 2.62 และ 105.19 ± 2.04 และ %RSD เท่ากับ 2.54 และ 1.94 ตามลำดับ

เมื่อนำตัวอย่างเครื่องดื่ม 2 ชนิด คือน้ำอัดลมและเครื่องดื่มผงซึ่งมีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสมมาทำการทดสอบความแม่นยำได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation,SD) เท่ากับ 0.36 และ 9.46 และ ค่า % RSD เท่ากับ 0.23 และ 4.31 ตามลำดับ

จากการทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ในเครื่องดื่ม 2 ชนิด ที่ไม่มีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสมโดยเติมสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทมที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าค่าเฉลี่ยของ % Recovery และ RSD ของแอสปาร์เทมในน้ำอัดลมมีค่า 104.16 ± 2.28 และ 2.19 ตามลำดับ ส่วนเครื่องดื่มชนิดผงซึ่งมี matrix substance สูง พบว่า % Recovery และ % RSD มีค่า 78.64±1.04 และ 1.32 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอสปาร์เทม และค่า peak area

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทมในเครื่องดื่ม ที่ความเข้มข้น 20–100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

ชนิดของเครื่องดื่ม	ปริมาณที่เติม (ppm)	% Recovery (Mean ± SD)	% RSD
น้ำอัดลม	20*	103.15 ± 2.62	2.54
	40	104.11 ± 1.71	1.64
	60	102.41 ± 0.27	0.26
	80	105.91 ± 1.05	0.99
	100*	105.19 ± 2.04	1.94
	ค่าเฉลี่ย	104.16 ± 2.28	2.19
เครื่องดื่มผง	20	78.23 ± 0.45	0.58
	40	79.92 ± 0.66	0.83
	60	77.83 ± 0.23	0.30
	ค่าเฉลี่ย	78.64 ± 1.04	1.32

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 6 ซ้ำ

วิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทม โดยวิธี HPLC ที่พัฒนาขึ้นนี้ค่าความแม่นยำและถูกต้องจากการทดสอบในเครื่องดื่มชนิดน้ำได้ผลดีในช่วงของความเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ที่แสดงในตารางที่ 1 ได้ค่า % Recovery เฉลี่ยของแอสปาร์เทมที่เติมในน้ำอัดลมเท่ากับ 104.16 ± 2.28 ซึ่งใกล้เคียงกับที่ Prodoliet และคณะ⁽⁹⁾ ได้รายงาน⁽⁹⁾ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องสูง แต่สำหรับเครื่องดื่มชนิดผงซึ่งมีสารรบกวนที่ซับซ้อนกว่า พบว่า % Recovery เท่ากับ 78.64 ± 1.04 แสดงว่าสารรบกวนอาจมีผลต่อการแยกแอสปาร์เทมออกจากตัวอย่าง ดังนั้นขั้นตอนการวิเคราะห์ควรมีการปรับปรุง โดยเฉพาะขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างซึ่งอาจมีผลต่อการแยกหรือการสลายตัวของแอสปาร์เทม

การหาแอสปาร์เทมในเครื่องดื่มสามารถใช้วิธี Spectrophotometry⁽¹⁰⁾ โดยแอสปาร์เทมจะทำปฏิกิริยากับ ninhydrin ทำให้เกิดสารที่มีสี แต่เนื่องจาก ninhydrin มีความจำเพาะต่อกลุ่มอะมิโนจึงใช้ propylene carbonate เป็นสารสกัดเพื่อแยกแอสปาร์เทมและกลุ่มอะมิโนที่รบกวนซึ่งค่อนข้างยุ่งยาก Lawrence และคณะ⁽¹¹⁾ ใช้ HPLC ในการวิเคราะห์หาแอสปาร์เทมในอาหารและเครื่องดื่มด้วย ระบบ gradient สามารถหาสารให้ความหวานได้ถึง 7 ชนิด Verzella และคณะ⁽¹²⁾ ใช้ HPLC เพื่อศึกษาหาปริมาณแอสปาร์เทม ด้วยระบบ

Ion Pair Chromatography จากสถานะเครื่องมือดังกล่าวยุ่งยากไม่เหมาะกับการวิเคราะห์ที่ทำเป็นประจำ ทั่ว ๆ ไป ผู้วิจัยจึงได้เลือกศึกษาโดยใช้ HPLC ด้วยระบบ isocratic ซึ่งได้มีผู้ศึกษาได้แก่ Tyler และคณะ⁽¹³⁾ ได้ใช้ระบบนี้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอสปาร์เทมในเครื่องดื่มประเภท โคล่า Tsang และคณะ⁽¹⁴⁾ หาปริมาณแอสปาร์เทมและสารที่เกิดจากการสลายตัวของแอสปาร์เทมในเครื่องดื่ม และ Prodoliet และคณะ⁽⁹⁾ หาปริมาณของแอสปาร์เทมและสารที่เกิดจากการสลายตัวของแอสปาร์เทมในอาหารและเครื่องดื่ม เลือกศึกษาและทดสอบวิธีของ Prodoliet และคณะ⁽⁹⁾ ซึ่งสามารถใช้หาปริมาณแอสปาร์เทมทั้งในอาหารและเครื่องดื่ม จากการศึกษาใช้ Column ชนิด Nova-Pak C18 แทน Column ชนิด u-Bondapak C18 พบว่า retention time ของแอสปาร์เทม ลดลงจาก 14 นาที⁽⁹⁾ เหลือ 5 นาทีโดยไม่มีการรบกวนของสารอื่น ๆ ในตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาปริมาณแอสปาร์เทม โดยวิธี HPLC นอกจากจะให้ค่าที่ถูกต้องและแม่นยำแล้วยังให้ค่าที่จำเพาะกว่าวิธี Spectrofluorometry ดังการทดลองที่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทมในน้ำอัดลมโดยวิธี HPLC เปรียบเทียบกับวิธี Spectrofluorometry พบว่าเมื่อเริ่มต้นทดลอง ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทมมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ 6 เดือน ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าปริมาณแอสปาร์เทมที่หาโดยวิธี Spectrofluorometry สูงกว่าวิธี HPLC (ตาราง

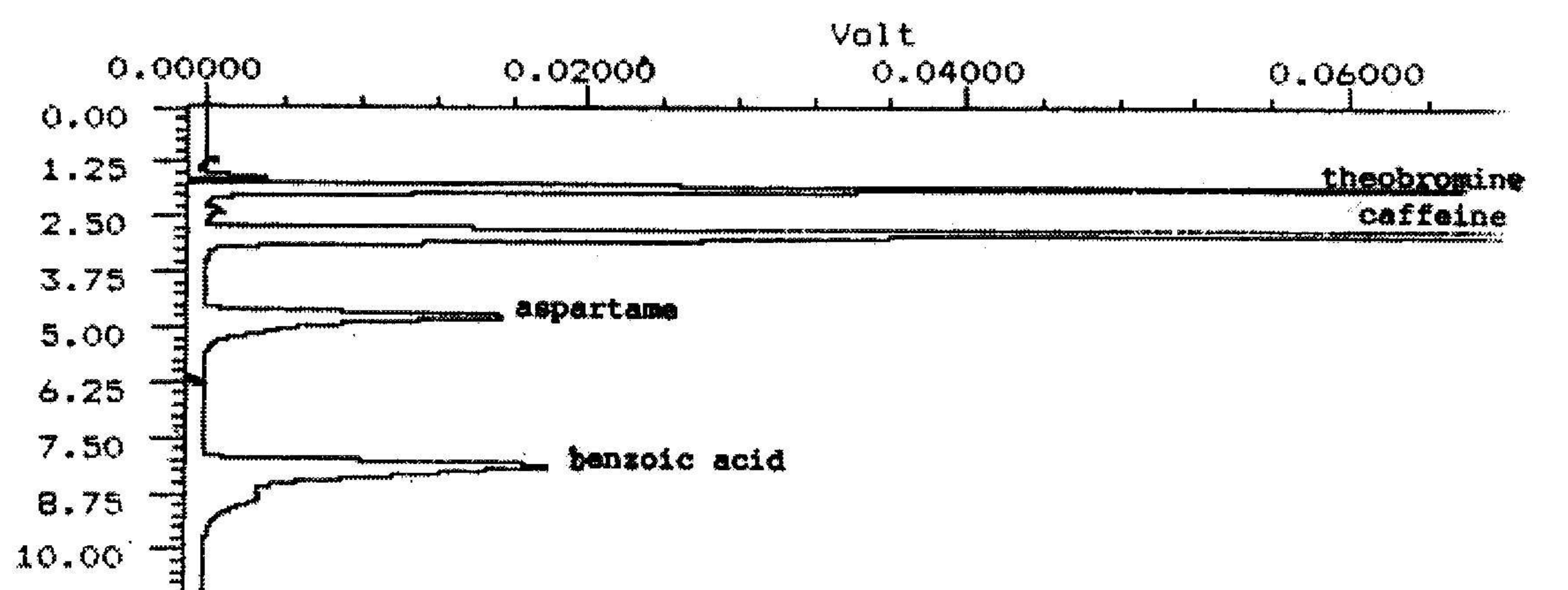
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอสปาร์เทมในน้ำอัดลม เมื่อเก็บไว้ 0 และ 6 เดือน โดยวิธี HPLC เปรียบเทียบกับวิธี Fluorometric Method

ระยะเวลาในการเก็บ (เดือน)	ปริมาณแอสปาร์เทม * (มิลลิกรัม/100กรัม)	
	HPLC	Flourometry
0	62.4	61.2
6	15.91	39.03

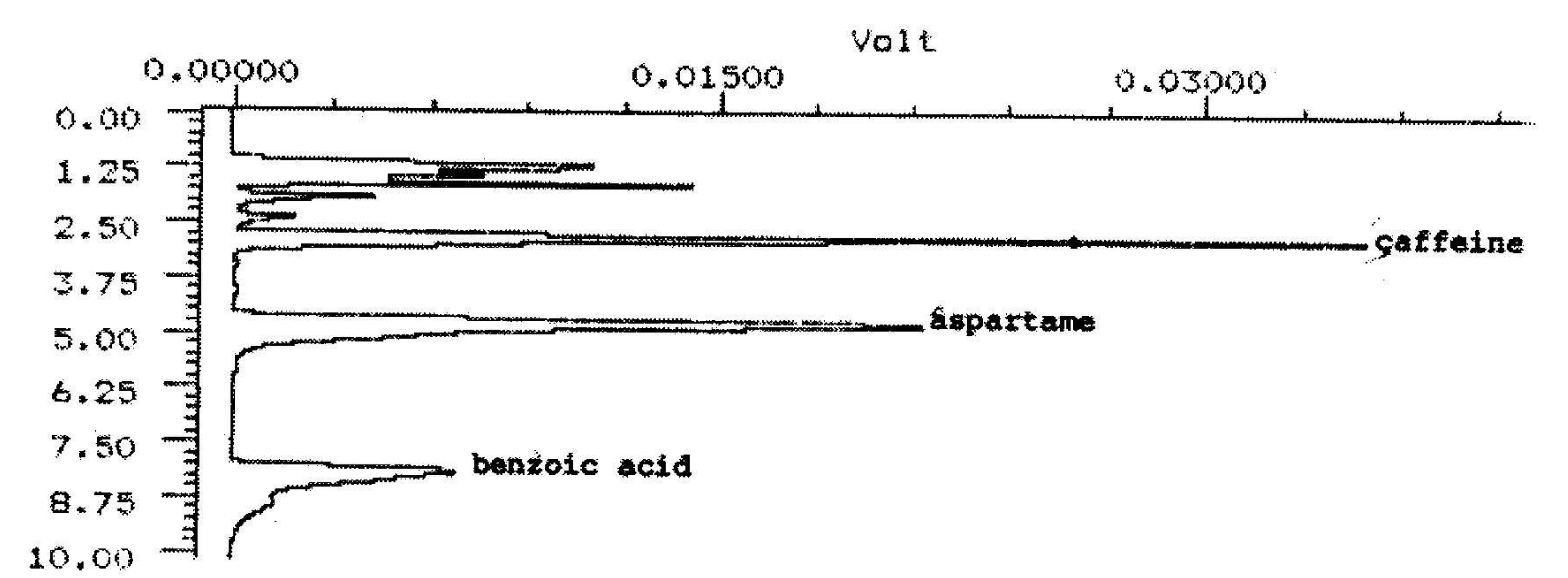
* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

ที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากแอสปาร์เทมในเครื่องดื่มสามารถเกิดการสลายตัวอย่างช้า ๆ สารที่เกิดจากการสลายตัวสามารถทำปฏิกิริยาและเกิดสารเรืองแสงได้เช่นเดียวกับแอสปาร์เทม ทำให้ค่าที่ได้ไม่ถูกต้อง นอกจากนี้ยังพบว่าการวิเคราะห์หาปริมาณแอสปาร์เทมโดยใช้ HPLC ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ๆ ในตัวอย่าง โดยก่อนการทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ได้มีการศึกษาอิทธิพลของสารตัวอื่น ๆ ที่อาจมีอยู่ในตัวอย่างได้แก่ ทรีโอโบรมีน แคลเฟอีนและกรดเบนโซอิก ซึ่งพบว่าสารทั้ง 3

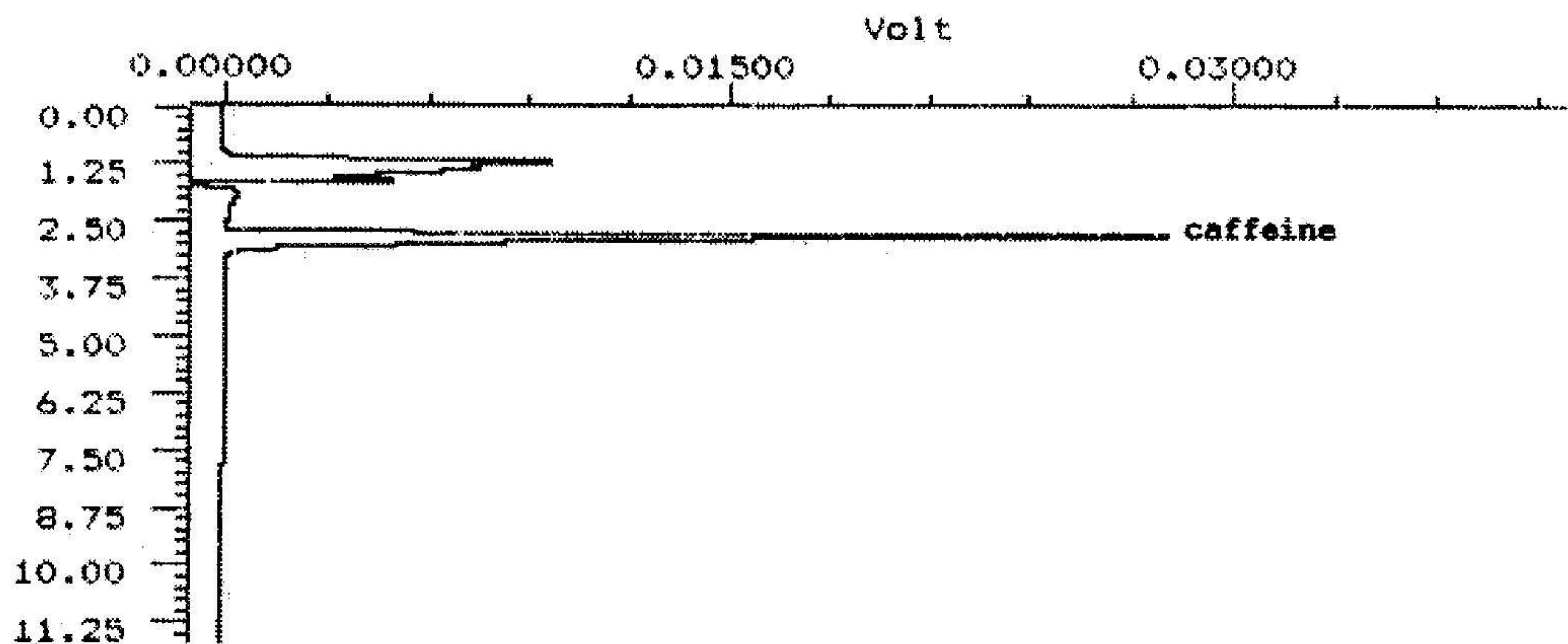
ชนิดไม่รบกวน peak ของแอสปาร์เทม ดังแสดงในรูปที่ 3 และเพื่อให้แน่ใจว่าวิธีที่ใช้หาแอสปาร์เทมไม่มีการรบกวนจาก matrix substance ที่มีอยู่ในตัวอย่าง จึงได้มีการศึกษา chromatogram ของตัวอย่างทั้งชนิดน้ำ และชนิดผงที่ไม่มีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสมเปรียบเทียบกับ chromatogram ของตัวอย่างชนิดเดียวกันที่มีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสม ดังแสดงในรูปที่ 4, 5, 6 และ 7 พบว่าไม่มี peak รบกวน



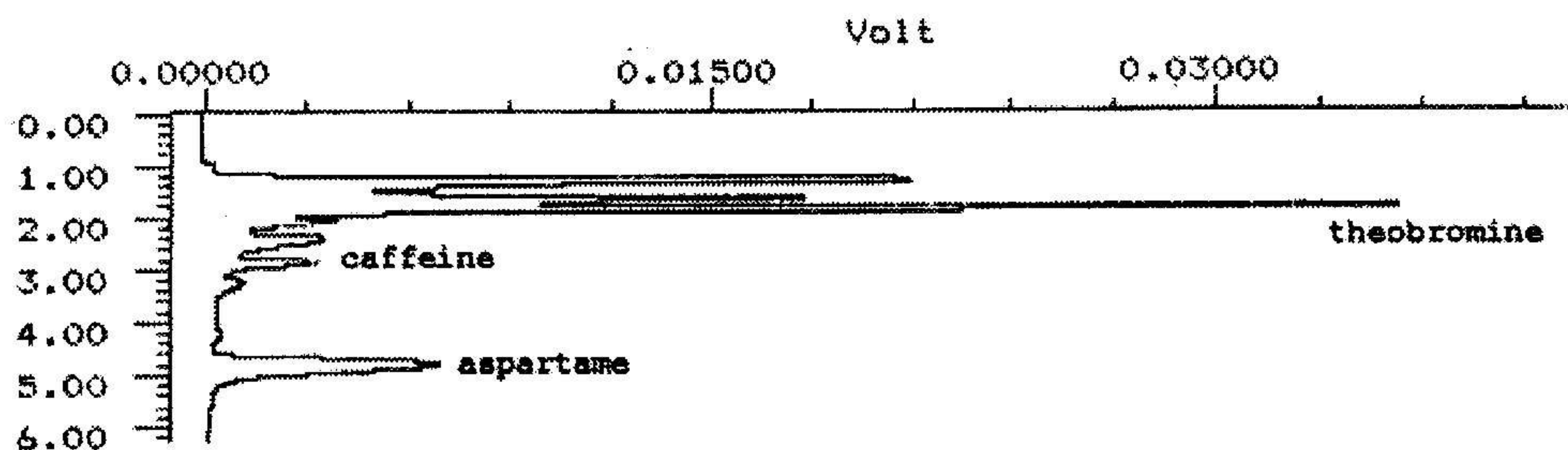
รูปที่ 3 แสดง Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน 4 ชนิด



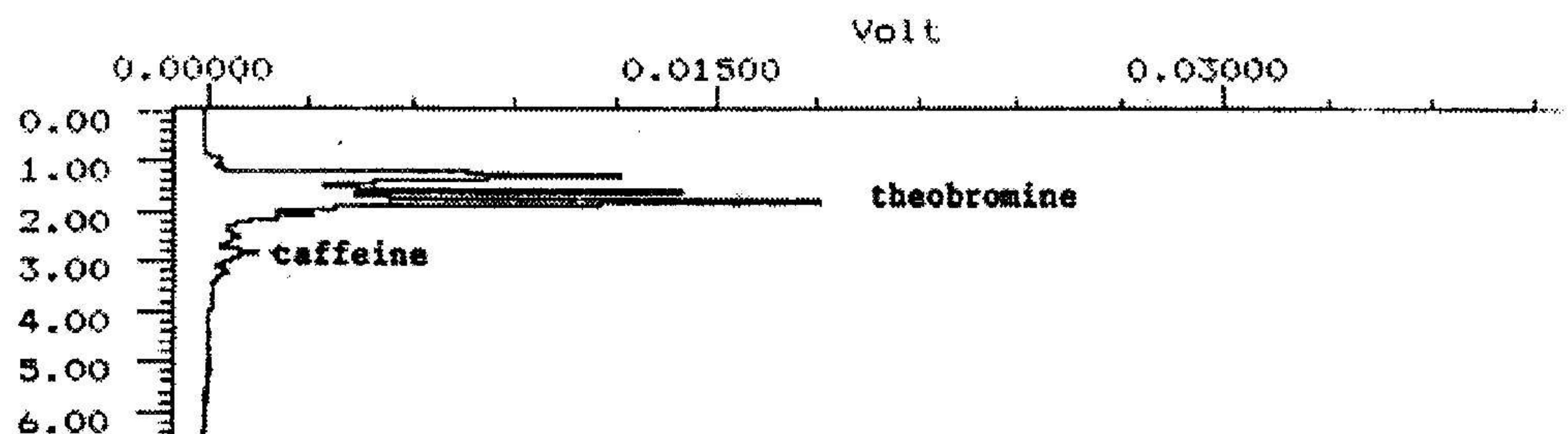
รูปที่ 4 แสดง Chromatogram ของ แอสปาร์เทม ที่ตรวจพบในน้ำอัดลมโคล่าชนิดไดเอท



รูปที่ 5 แสดง Chromatogram ของน้ำอัดลมโคล่าที่ไม่มีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสมในฉลาก



รูปที่ 6 แสดง Chromatogram ของแอสปาร์เทม ที่ตรวจพบในเครื่องดื่มรสชอคโกแลตชนิดไดเอท



รูปที่ 7 แสดง Chromatogram ของเครื่องดื่มรสชอคโกแลตที่ไม่มีแอสปาร์เทมเป็นส่วนผสมในฉลาก

สรุป

การหาปริมาณแอสปาร์เทมโดยใช้ Spectrofluorometric Method เหมาะกับตัวอย่างแอสปาร์เทมที่จำหน่ายปลีกเพื่อใช้แทนน้ำตาล ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้หาปริมาณแอสปาร์เทมในเครื่องดื่ม เนื่องจากแอสปาร์เทมเมื่ออยู่ในรูปสารละลายสามารถเกิดการสลายตัวได้กลุ่มของกรดอะมิโน ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาและเกิดสารเรืองแสงได้เช่นเดียวกับแอสปาร์เทม ทำให้ค่าที่ได้ไม่ถูกต้อง การหาปริมาณแอสปาร์เทมในเครื่องดื่มโดยใช้ HPLC เป็นวิธีที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว เนื่องจากไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดที่ยุ่งยาก เพียงแต่เจือจางหรือสกัดด้วยน้ำแล้วตกตะกอนสารที่รบกวน ให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ สำหรับเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของโปรตีนและไขมันจะต้องมีการพัฒนาขั้นตอนการแยกแอสปาร์เทมเพื่อให้ประสิทธิภาพวิธีดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Mazur, R.H. 1984. Discovery of Aspartame. In "Aspartame," ed. Stegink L.D. and Filer L.J. Marcel Dekker, Inc., New York. p. 3–9.
2. Homler, B.E. 1984. Properties and Stability of Aspartame. Food Technol. 38(7) : 50 – 55.
3. Vetsch W. 1985. Aspartame : Technical Considerations and Predicted Use. Food chem. 16 (3 & 4) : 245.
4. Aspartame, Toxicological Evaluation of Certain Food Additive 1980, World Health Organization, Food Additives Series, No. 15, Joint FAO–WHO Expert Committee on Food Additive, p.18
5. Higginbotham, J.D. 1984. Some Recent Developments in High Intensity Sweeteners. Food Technol in Australia. 36(12) : 552–554.
6. Calories Control Council. 1985. Aspartame. Calories Control Council, Atlanta, G.A.
7. Food and Agriculture Organization of the United Nations 1982 in Aspartame ; Specifications for Identity and Purity of Carrier Solvents, Emulsifiers and Stabilizer, Enzyme Preparations, Flavoring Agents, Food Colors, Sweetening Agents and Other Food Additives, Rome, Italy, PP.25 – 31.
8. Pochtova, M., and Kakac, B. 1982. Fluorimetry in pharmaceutical analysis III. Fluorimetric determination of : aspartame–L–phenylalanine methyl ester hydro–chloride (aspartame). Cesk. Farm. 31 (3–4) : 113 – 115.
9. Prodoliet, J. and Bruehlhart, M. 1993 Determination of Aspartame and Its Major Decomposition Product in Food. J. AOAC international 76(2) : 275–282.
10. Lau, O.w., Luk, S.F. and Chan, W.M. 1988. Spectrophotometric Determination of Aspartame in Soft Drinks with Ninhydrin as Reagent. Analyst 113 (5) : 765 : 768.
11. Lawrence, J.F. and Charbonneau, C.F. 1988. Determination of Seven Artificial Sweeteners in Diet Food Preparation by Reverse – Phase Liquid Chromatography with Absorbance Detection. J. AOAC. 71 (5) : 934 – 937.
12. Verzella, G., Bagnasco, G. and Mangia, A. 1985. Ion – Pair High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Aspartame and Related Products. J. Chromatogr. 349 : 83–89.
13. Tyler, T.A. 1984. Liquid Chromatographic Determination of sodium Saccharin, Caffeine, Aspartame and Sodium Benzoate in Cola Beverages J. AOAC 67 (4) : 745 – 747.
14. Tsang, W.S., Clarke, M.A. and Parrish, F.W. 1985. Determination of Aspartame and Its Breakdown Products in Soft Drink by Reverse – Phase Chromatography with UV Detection. J. Agric. Food Chem. 33 (4) : 734 – 738.