Thesis Title Simultaneous Analysis of Some Food Additives by High Performance Liquid Chromatography After Sample Pretreatment Using Dialysis

Author Miss Nitra Nuengchamnong

M.S. Chemistry

Examining Committee Asst.Prof.Dr. Mongkon Rayanakorn Chairman
Asst.Prof.Dr. Yuthsak Vaneesorn Member
Asst.Prof.Dr. Surasak Watanesk Member

ABSTRACT

A high performance liquid chromatographic method was employed in this study for the simultaneous determination of six food additives, namely, acesulfame-K, saccharin, caffeine, aspartame, benzoic acid and sorbic acid in foodstuffs. Prior to analysis, samples were extracted and cleaned up using equilibrium dialysis. Aliquots of the extract were analysed on a μBondapak C18 column using 0.025M KH_2PO_4 (pH3.5)-MeOH (70:30 v/v) as mobile phase. Detection was performed by UV absorbance at 220 nm. The order of elution was acesulfame-K, saccharin, caffeine, aspartame, benzoic acid and sorbic acid with the analysis time of 16 minutes.

The injected quantities of the food additives were in the linear range of the detector and the correlation coefficients of the straight line graphs of all six food additives were better than 0.998. The detection limits of acesulfame-K, saccharin, caffeine, aspartame, benzoic acid and sorbic acid were 1.2, 2.8, 1.0, 5.2, 0.6 and 2.1 mg/l, respectively. The quantities of the six compounds injected were in the

following ranges: acesulfame-K (1-350), saccharin (5-250), caffeine (5-400), aspartame (5-500), benzoic acid (5-500) and sorbic acid (1-500) mg/l.

The use of equilibrium dialysis at the extraction step was found to be able to eliminate their interferences such as protein, lipid or other matrices that have molecular weight cutoff greater than 12,000-14,000 daltons. The suitable dialysis solution was water and dialysis time was 15 hrs. The percentages of recoveries found at the concentration 10-100 mg/kg in diet cola brand A were 91-103 for saccharin, 96-98 for caffeine, 88-95 for aspartame and 82-97 for benzoic acid. With diet cola brand B, recoveries were 103-107 for acesulfame-K, 104-106 for caffeine, 96-99 for aspartame and 98-102 for benzoic acid. The relative standard deviations for both types of diet cola were less than 6. Percent recoveries with pork sausage samples were 96-98 for benzoic acid while those with mayonnaise were 88-94 for benzoic acid and 84-92 for sorbic acid with relative standard deviations less than 9 for both types of sample. In buffered solution, pork sausage and mayonnaise samples yielded lower recoveries than in water. The detection limits found in samples were higher than those found from the calibration curves of food additive standards.

The method was also used in the detection of food additives in 17 commercial food products, which were found to comply with the regulation except Thai custard and iced coffee which were found to contain amounts of preservatives in excess of the limit. Other interferences and substances were found to have no interfering effect with the analytes.

The developed method is cost-effective and should therefore be suitable for routine analysis of food products, particularly in respect of their compliance with the Food and Drug Administration regulation.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์วัตถุเจือปนอาหารบางตัวพร้อมกันโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงหลังจากการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีไดอะลิซิส
ชื่อผู้เขียน นางสาวนิทรา เนื่องจำนงค์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. มงคล รายะนาคร ประธานกรรมการ
ผศ.ดร. ยุทธศักดิ์ วณีสอน กรรมการ
ผศ.ดร.สุรศักดิ์ วัฒเนสก์ กรรมการ

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์วัตถุเจือปนอาหาร 6 ชนิด พร้อมกัน คือ อะซิซัลเฟม-เค ซัคคาริน แคฟเฟอีน แอสพาร์เทม กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก ในตัวอย่างอาหาร ก่อนวิเคราะห์ตัวอย่างถูกสกัดและทำให้สะอาดโดยวิธีไดอะลิซิสที่สมดุล สารละลายที่สกัดได้นำไปวิเคราะห์ โดยใช้ คอลัมน์ไมโครบอนดาแพค ซี18 วัฏภาคเคลื่อนที่ คือสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.025 โมลาร์ พี เอช 3.5 ต่อ สารละลายเมธานอล (สัดส่วน 70:30 โดยปริมาตร) ตรวจวัดในช่วงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ลำดับของการออกจากคอลัมน์ คือ อะซิซัลเฟม-เค ซัคคาริน แคฟเฟอีน แอสพาร์เทม กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก ใช้เวลาวิเคราะห์ทั้งสิ้น 16 นาที

การหาปริมาณของวัตถุเจือปนอาหารได้ค่าการตรวจวัดอยู่ในช่วงเส้นตรง มีค่าสัมประสิทธิ์ของสหสัมพันธ์ ของวัตถุเจือปนอาหารทั้ง 6 ชนิด มากกว่า 0.998 ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ของสาร อะซิซัลเฟม-เค ซัคคาริน แคฟเฟอีน แอสพาร์เทม กรดเบนโซอิก และ กรดซอร์บิก คือ 1.2, 2.8, 1.0, 5.2, 0.6 และ 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ช่วงของการวิเคราะห์ที่มีกราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรของสาร อะซิซัลเฟม-เค (1-350), ซัคคาริน (5-250), แคฟเฟอีน (5-400), แอสพาร์เทม (5-500), กรดเบนโซอิก (5-500) และ กรดซอร์บิก (1-500)

การใช้วิธีไดอะลิซิสที่สมดุลในขั้นตอนการสกัดตัวอย่าง พบว่าสามารถกำจัดสิ่งสอดแทรก เช่น โปรตีน ไขมัน หรือ สิ่งเจือปนอื่น ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า 12,000-14,000 ดัลตัน ออกได้ สารละลายที่เหมาะสมในการทำไดอะลิซิสคือ น้ำ และใช้เวลาในการเกิดไดอะลิซิส 15 ชั่วโมง ค่าร้อยละของการกลับคืนที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 10-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่าง

เครื่องดื่มไดเอท โคล่า ตราเอ คือ 91-103 สำหรับซัคคาริน, 96-98 สำหรับแคฟเฟอีน, 88-95 สำหรับแอสพาร์เทม และ 96-99 สำหรับกรดเบนโซอิก ตัวอย่างเครื่องดื่มไดเอท โคล่า ตราบี มีค่าร้อยละของการกลับคืน เป็น 103-107 สำหรับอะซิซัลเฟม-เค, 104-106 สำหรับแคฟเฟอีน, 96-99 สำหรับแอสพาร์เทม และ 98-102 สำหรับกรดเบนโซอิก ทั้งสองตัวอย่างมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 6 ค่าร้อยละของการกลับคืนในตัวอย่างหมูยอคือ 96-98 สำหรับกรดเบนโซอิก ในขณะที่ตัวอย่างมายองเนส เป็น 88-94 สำหรับกรดเบนโซอิก และ 84-92 สำหรับกรดซอร์บิก โดยทั้งสองตัวอย่างมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ น้อยกว่า 9 ในตัวอย่างหมูยอ และมายองเนส พบว่าสารละลายตัวอย่างที่สกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ให้ค่าร้อยละของการกลับคืนต่ำกว่าในตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างอาหาร สูงกว่าที่หาได้จากกราฟมาตรฐานของวัตถุเจือปนอาหาร

ได้ใช้วิธีนี้ในการวิเคราะห์วัตถุเจือปนอาหารในตัวอย่างอาหาร จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างอาหารมีปริมาณวัตถุเจือปนอาหารเป็นไปตามข้อกำหนด ยกเว้น ตัวอย่างสังขยา และโอเลี้ยง มีปริมาณวัตถุกันเสียสูง เกินค่ากำหนด สำหรับสารสอดแทรก และสารอื่นๆ ไม่มีผลกระทบต่อสารที่วิเคราะห์

วิธีการที่ได้พัฒนามานี้มีค่าต้นทุนการวิเคราะห์ไม่สูง จึงเหมาะสำหรับงานวิเคราะห์อาหารที่วิเคราะห์เป็นประจำโดยเฉพาะในงานตามข้อกำหนดของคณะกรรมการอาหารและยา