

[原著論文]

飲料中磷酸檢驗方法之探討

林 瑞 著 張 碧 秋 周 薰 修

行政院衛生署藥物食品檢驗局

(Received on: 3/19/1990; Accepted on: 7/30/1990)

摘 要

磷酸之定量方法很多種，經比較後，以離子層析 (Ion Chromatograph) 法所需之前處理和所使用的試藥最少，可快速分析。飲料檢體經超音波振盪再以濾膜過濾後，即可用離子層析儀分析，本實驗使用陰離子層析管 (Ionpac As4) 導電度計檢測器 (Conductivity Detector)。添加三種不同濃度標準品於樣品中，使其最終濃度為 0.1, 0.5 及 1.0 mg/ml，測其回收率，各種濃度在三重覆下，其平均回收率分別為 101.7%, 110.0% 及 99.9%，總平均回收率為 103.9%。由結果顯示，本檢驗方法其回收率及再現性均良好。又利用本檢驗法檢驗市售飲料 50 件，包括可樂 28 件、果汁 6 件、沙士、汽水 12 件，其它 (運動、休閒) 飲料 4 件，其中可樂 28 件檢體皆符合限量標準 0.6g/kg 以下。

前 言

磷酸係糖漿狀透明液，由磷酸岩製造，如經稀釋至適當濃度有良好的口感，食品添加物磷酸通常指 Ortho Phosphoric acid 而言，以乾式法製造，市售含量有 89%，85% 及 75% 等幾種，但食品添加物規格標準規定其含量應在 85% 以上 (1)。磷酸之食品用途很少，僅限用於清涼飲料作為酸味劑，而現行食品添加物使用範圍及用量標準中規定可樂飲料准予添加磷酸為調味劑，但不得超過 0.6g/kg (2)。

磷酸之定量方法有很多種，可用原子吸收光譜分析法，感應耦合電漿——原子發射光譜分析法、分光光度計比色定量法 (3,4)，滴定法 (4)，高速液相層析法 (5) 及離子層析分析法 (6-9)。因原子吸收光譜分析法，感應耦合電漿——原子發射光譜分析法，比色法及滴定法皆需將檢體經由灰化而定量，且定出之量為磷之含量而不是磷酸量，這些定量方法除花費較長時間做前處理外，

另分析之元素在灰化時可能因溫度控制不佳，而造成損失。

高速液相層析法其前處理雖不經灰化且可直接定出磷酸含量，但檢體須流經陽離子交換樹脂及陰離子交換樹脂，其試藥之用量及處理均需多量且繁雜。近幾年來離子層析儀（IC）已被廣泛應用在陰離子及陽離子的分析，且能快速而準確地定量欲分析之離子（6-9）。

本研究旨在發展一精確、快速之檢驗方法，以測定飲料中之磷酸含量，經比較各種檢驗方法，發現以離子層析分析法所需檢體前處理最簡便和快速，僅需將飲料檢體用濾膜過濾後，即可用IC分析。離子層析分析法用以分析之分離管可分為陽離子交換樹脂管和陰離子交換樹脂管兩種（10,11）。本檢驗方法為使用低容量陰離子交換樹脂管和高容量陽離子交換樹脂抑制管，並以導電度計為檢測器。利用添加三種不同濃度之磷酸於可樂飲料中，探討其回收情形，以尋求一最佳分析條件和檢驗方法做為日後定量依據。另為了解市售飲料使用磷酸為調味劑之情形，抽購檢體50件檢測其磷酸含量並確認此方法之可行性。

材料與方法

一、檢體來源：

檢體採樣時間為七十八年一月至六月，於全省食品行及超級市場抽購可樂飲料28件（26件國產，2件進口）果汁飲料6件，沙士、汽水12件及其他飲料（運動、休閒）4件，共計50件。檢體採集後，放置於通風乾燥地方。

二、材料：

（一）裝置：

1 離子層析儀—Dionex Series 2000 I/SP ion Chromatography。
附導電度檢測器。

2 分離管—Dionex Ionpac AG 4, Dionex ionpac AS4。

3 抑制管—Dionex Anion micro membrane Suppressor。

（二）試藥：

碳酸鈉、碳酸氫鈉均採用試藥特級、硫酸採用光譜級。

標準品：Ortho Phosphoric acid 85%，E MERCK製。（三）器具及材料：

1 燒杯。

2 濾膜：孔徑 $0.45\mu\text{m}$ 。Polyvinylidene difluoride材質。

（四）流洗液（Eluent）配製：取0.25g 碳酸氫鈉及0.933g碳酸鈉溶於4000ml之水中，以孔徑 $0.45\mu\text{m}$ 之濾膜過濾，取濾液作流洗液溶液。

（五）再生液（Regenerant）配製：取28ml濃硫酸溶於4000ml之水中，以孔徑 $0.45\mu\text{m}$ 之濾膜過濾，取濾液作再生液溶液。

（六）標準溶液之調製：

精確稱取磷酸標準品以水調製成 0.5mg/ml 之標準溶液。

三、檢驗方法：

(一)檢液處理

精確稱取 20ml 檢體於燒杯中，以超音波振盪驅除氣泡，再用 0.45 μ m millipore 過濾後供作檢液。

(二)定量

檢液及標準溶液各取 50 μ l 分別注入離子層析儀，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，求出檢體中磷酸之含量。

離子層析儀條件：

檢測器：導電度計 (0.01 - 1 K μ m)。

分離管：Dionex ionpac AG4 前接預置管 (guard column)，Dionex ionpac AS4 後連抑制管 (Suppressor column) Dionex anion micro membrane Suppressor。

流洗液流速：2.0ml/min。

再生液流速：2.0ml/min。

(三)回收率之測定：

取飲料檢體添加磷酸標準品使其最終濃度為 0.1、0.5 及 1.0mg/ml，另取一不添加標準品者作為空白組，依三 (一)、(二) 之方法操作，以進行回收率試驗。

結果與討論

離子層析儀 (IC) 是一種低壓力的高效液相層析儀，具有抑制管 (Suppressor) 及導電度檢測器 (Conductivity detector)。IC 所用之分析原理與一般離子交換樹脂相同，由於離子與樹脂間的親和力不同，造成溶出效率差異，而將各種不同的離子予以分離 (10,11)，本檢驗法所欲分析飲料中之磷酸成分，主要是利用磷酸根在陰離子交換樹脂管之吸附力不同，而與其它離子分離。由於本次檢驗法所用之流洗液為 0.00075M NaHCO₃ 和 0.0022M Na₂CO₃ PH 值為 10.8，而磷酸之平衡常數 $K_2=6.34 \times 10^{-8}$ $K_3=4.2 \times 10^{-13}$ 故檢測出之磷酸根為 HPO₄，而飲料中如含有磷酸根 PO₄ (H₃PO₄, H₂PO₄, HPO₄) 均可被檢出。為證明此點曾比較同濃度之 H₃PO₄、H₂PO₄ 及 HPO₄ 三種溶液，結果其積分面積及滯留時間皆相同，又飲料檢體如同 Singh 等人 (1988) 分析尿液中磷酸一樣，僅需用簡易前處理，即可用 IC 檢測其量，而不像其他檢驗方法需繁複和長時間之前處理或濃縮步驟 (3-5)，且定出之量除高效液相層析儀為磷酸外，其餘方法均為磷之總含量，而非磷酸含量如 AOAC 檢驗磷酸方法為採用比色法，先將檢體灰化定容，再呈色，最後用分光光度計定量，且定出之量為總 P 含量，如欲求

出磷酸量，則尚須藉P 換算出磷酸量，但飲料中可能尚含有別的磷化合物，故如欲單獨定量磷酸含量，採用本法將有較準確結果。圖一即是磷酸之離子層析圖譜。

因磷酸只能添加於可樂(1.2)中，故為了確認此檢驗方法之再現性及可行性而依照可樂飲料之磷酸限量標準0.6mg/g，添加標準品于樣品中，使其最終濃度分別為0.1，0.5，及1.0mg/ml，測其回收率且每種濃度重覆三次，回收率為101.7% (CV=0.2%)，110.0% (CV=0.1%)，99.9% (CV=5.0%)，見表一。

圖二中縱軸為積分面積，橫軸為濃度，標準曲線 $Y=-246090.1311+17681715.2459X$ ($r=1.0000$) 回收曲線 $Y=-38503.5246+18162790.9836X$ ($r=0.9991$)，由圖二顯示兩條曲線線性關係均極良好。此和Singh 等人測尿中磷酸添加回收率為103% 一樣，回收結果均極良好。圖一則為可樂飲料中添加0.1mg/ml磷酸濃度之離子層析圖譜。本檢驗法所使用的導電度檢測器可用檢測範圍為0.01-1 K μs ，若本實驗用300 μs 則飲料中磷酸之最低檢出量為0.5ppm。

為了解本檢驗方法應用於檢驗市售飲料之情況並調查業者使用磷酸情形，故小規模於全省調查市售飲料檢體50件，檢驗其磷酸含量包括可樂飲料28件、果汁飲料6件、沙士、汽水12件及其它飲料(運動、休閒)4件，檢驗結果詳見表二。

由結果顯示28件可樂中，皆檢出磷酸，其含量介於0.22g/kg-0.59g/kg 間，均符合限量標準0.6g/kg 以下。6件果汁中有4件檢出磷酸根含量，其量介於0.02g/kg-0.13g/kg 之間。12件沙士、汽水中檢出4件飲料含有磷酸根，其量介於0.008g/kg-0.09g/kg，其他(運動、休閒飲料)4件，則檢出3件含有磷酸根，其量介於0.01g/kg-0.22g/kg 間。所檢驗的28件可樂飲料，其包裝皆標示含有磷酸，由檢出量知業者添加於可樂之量以0.41g/kg-0.50g/kg 最多，佔46.4%。而檢出四件磷酸量低於0.30g/kg，其檢體乃屬於低熱量之可樂，所以業者不需加入太多量，就可達到良好的風味和口感。至於其他種類飲料，也檢出相當高比例(50%)之檢體含有磷酸根，乃因磷酸除做為調味劑外，尚有其它磷酸鹽類常被用來做為食品品質改良，釀造用及食品製造用劑(2)，不過其量皆不是很高，較高量之磷酸根有二件，分別為0.22g/kg及0.21g/kg，皆為運動飲料，且其中一件於外包裝上標示含有磷酸三鉀及磷酸三鈣。由本次調查結果知可樂製造業者於使用調味劑磷酸時，皆能遵守食品添加物使用範圍及用量標準。

參考文獻

1. 王仁澤、李天生：食品添加物檢驗法。P.609-610，黎明書局，新竹市(1985)。
2. 行政院衛生署：食品添加物使用範圍及用量標準(1987)。

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. NLFD)

Angle

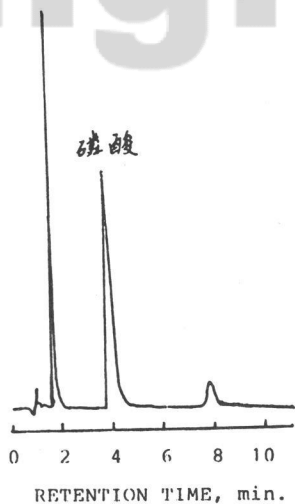


Fig. 1. Ion chromatogram of adding phosphoric acid (0.1mg/ml) in cola drinks.
Column: Ionpac AG4+AS4+Anion micromembrane suppressor.
Detector: Conductivity detector (300 μ s)
Flow rate: 2ml/min.

圖一 可樂飲料中添加0.1mg/ml磷酸標準品之離子層析圖譜

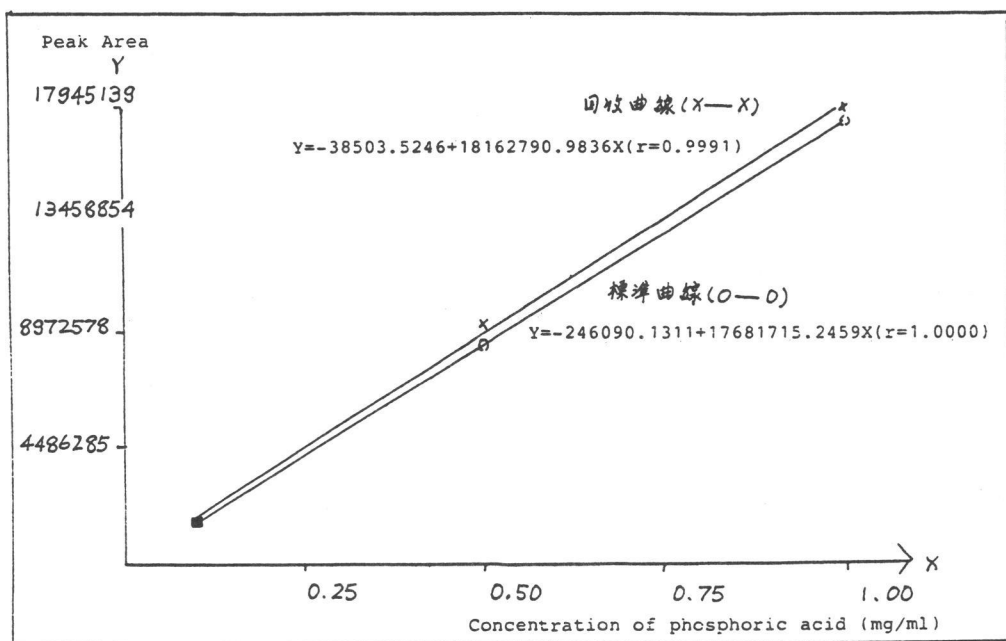


Fig. 2. Standard curve and recovery curve of adding phosphoric acid in cola drinks.

圖二 可樂飲料中添加磷酸之標準曲線與回收曲線

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. NLFD)

表一、可樂飲料加入不同濃度之磷酸回收試驗結果：

Table 1. The recoveries of adding various concentration of phosphoric acid in cola drinks.

添加濃度 (mg/ml)	檢體編號	回收率 %	平均回收率 %	標準偏差	變異係數 CV (%)
0.1	No. 1	101.7	101.7	0.2	0.2
	No. 2	101.5			
	No. 3	101.9			
0.5	No. 1	109.9	110.0	0.1	0.1
	No. 2	110.1			
	No. 3	110.1			
1.0	No. 1	105.5	99.9	5.0	5.0
	No. 2	97.0			
	No. 3	97.2			

表二、市售飲料磷酸含量調查結果

Table 2. Survey on the contents of phosphoric acid in commercial beverages

檢體種類	檢驗件數	檢出件數	檢出含量 (g/kg)
可樂	28	28	0.22 ~ 0.59
果汁	6	4	0.02 ~ 0.13
沙士、汽水	12	4	0.008 ~ 0.09
其它 (運動、休閒)	4	3	0.01 ~ 0.22
合計	50	39	0.008 ~ 0.59

3. A.O.A.C. : Official Method of Analysis, 14th Ed. pp.223. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1984).
4. 食品添加物公定解說書，第五版：P.D883-D886, P.D1026-D1029, 廣川書店，東京 (1987)。
5. Blake, J.D. and Clarke, M.L.: Determination of organic acids in sugar cane process juice by high-performance liquid chromatography: improved resolution using dual durinex HPX-87H cationexchange columns equilibrated to different temperatures. J. chromatography. 398:265-277 (1987).
6. Schwabe, R., Darimont, T., Mohlmann, E., Pabel, E. and Sonneborn, M.: Determination of inorganic compounds and organic acids in different types of water by ion chromatography. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 14:169-179 (1983).
7. Okada, T. and Kuwamoto, T.: Sensitivity of non-suppressed ion Chromatography using divalent organic acids as eluents. J. Chromatography, 284:149-156 (1984).
8. Fritz, J.S., Dural, D.L. and Barron, R.E. : Organic acid eluents for single-column ion chromatography. Anal.Chem. 56: 1177-1182 (1984).
9. Singh, R.P. and Nancollas, G.H. : Determination of phosphate, sulfate and oxalate in urine by ion chromatography. J. Chromatography, 433:373-376 (1988).
10. 施正雄：離子層析分析儀。科儀新知，7(1):70-78(1985)。
11. 詹彩璽：利用離子層析儀分析食品中亞硫酸鹽，食品工業，20(12): 21-31 (1988)。

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. NLFD)

IONIC CHROMATOGRAPHIC STUDIES ON PHOSPHORIC ACID IN BEVERAGE PRODUCED IN TAIWAN

Ruey-Juh Lin, Bin-Chiou Chang and Shin-Shou Chou

National Laboratories of Foods and Drugs Department
of Health, Executive Yuan, Taipei, Taiwan, R.O.C.

(Received on: 3/19/1990 ; Accepted on: 7/30/1990)

ABSTRACT

Numerous methods have been used to detect the phosphoric acid in beverage. Among them ionic chromatographic (IC) method takes advantages of less reagent for pretreatment and less time for analysis. Through Ultrasonic degas and filtration, the drink samples are ready for I.C. analysis. In this study, three concentrations of phosphoric acid, 0.1mg/ml, 0.5mg/ml and 1.0mg/ml, in drink samples were used to detect the recoveries. The average recoveries in triplicate were 101.7%, 110.0% and 99.9% respectively and the total average recovery was 103.%. These results indicated that I.C. method could get good recovery and reproducibility.

50 drink samples including 28 cola drinks, 6 kinds of fruit juice, 12 sarsparilla drinks and 4 other drinks (sport, safari club drink) were detected the phosphoric acid contents by I.C. method. All 28 cola samples didn't exceed the legal allowance (0.6g/kg).

Key words: Phosphoric acid, ion chromatography, beverage