

# 食品中添加物之檢驗



蔡佳芬

行政院衛生署食品藥物管理局

101.06.12

# 食品添加物的特點

- 食物中原本不存在，是為了某種目的特地加進去的。
- 不能單獨食用。
- 使用量很少，約為百分之一以下，常常只能有幾個ppm（百萬分之一，例如：一公斤食物加入千分之一公克的添加物為一ppm）。
- 合法的食品添加物是要申請，經中央主管機關查驗登記，並發給許可證才可上市販賣使用。

# 食品添加物的使用原則

- 不可用來**掩飾粗劣的製造技術與劣質的原料**。
- 使用的結果不可對人體健康有害或降低營養價值。
- 使用時必須具「**必要性**」與「**有效性**」才可添加。
- 不可**以假亂真**。
- 應使用衛生署許可**持有許可證**之合法食品添加物。

# 食品衛生管理法

- 第十二條

食品添加物之品名、規格及其使用範圍、限量，應符合中央主管機關之規定。

- 第二十五條

食品衛生檢驗之方法，由中央主管機關公告指定之；未公告指定者，得依國際間認可之方法為之。

# 訓練主題

- 包裝飲用水及盛裝飲用水中溴酸鹽之檢驗
- 食品中水溶性維生素之檢驗

# 溴酸鹽

- 溴酸鹽曾為我國准用於麵粉之食品添加物，可氧化麵糰麵筋的硫氫基，形成雙硫鍵，以促進麵糰的網狀結構，增加麵糰於發酵時之體積，為麵粉之品質改良劑。
- 但世界衛生組織於1986年公佈溴酸鉀有致癌的潛在危機，並於1993年將其由食品添加物列表中移除。
- 我國行政院衛生署亦於民國83年公告禁用溴酸鉀為食品添加物。

# 包裝飲用水及盛裝飲用水衛生標準

第六條 溴酸鹽限量：0.01 ppm以下。

- 自九十五年七月一日施行

# 維生素B1

## 使用食品範圍及限量：

1. 形態屬**膠囊狀、錠狀**且標示有每日食用限量之食品，在**每日食用量**中，其維生素B1之**總含量不得高於50 mg**。
2. 其他**一般食品**，在**每日食用量或每300 g 食品**(未標示每日食用量者)中，其維生素B1之總含量不得高於**1.95 mg**。
3. **嬰兒(輔助)食品**，在每日食用量或每**300 g 食品**(未標示每日食用量者)中，其維生素B1之總含量不得高於**0.9 mg**。

## 使用限制：

限於補充食品中不足之營養素時使用。

# 包裝飲用水及盛裝飲用水中 溴酸鹽之檢驗方法

95年9月13日署授食字第0951800026號公告

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於包裝飲用水及盛裝飲用水中溴酸鹽之檢驗。
2. 檢驗方法：高效離子層析法(high performance ion chromatography, HPIC)。

## 2.1 裝置：

### 2.1.1 高效離子層析儀：

2.1.1.1 檢出器：導電度檢測器(conductivity detector)。

2.1.1.2 分析管柱(Analytical column): IonPac®AS9-HC，內徑4 × 250 mm，或同級品。

2.1.1.3 保護管柱(Guard column): IonPac®AG9-HC，內徑4 × 50 mm，或同級品。

2.1.1.4 陰離子自我再生型抑制器(Anion self-regenerating suppressor): ASRS Ultra，4 mm，或同級品。

# 標準溶液之配製

- 取溴酸鈉對照用標準品約**1.18 g**，精確稱定，以去離子水溶解並定容至**1000 mL**，作為標準原液，使用時再以去離子水稀釋成**5~50 ng/mL**，供作標準溶液。

# 鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液，分別注入高效離子層析儀中，參照下列條件進行離子層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，由標準曲線求得檢液中溴酸鹽之濃度（ng/mL）。

高效離子層析測定條件：

- 分析管柱：**IonPac®AS9-HC**，內徑4 × 250 mm。
- 保護管柱：**IonPac®AG9-HC**，內徑4 × 50 mm。
- 陰離子自我再生型抑制器：**ASRS Ultra, 4 mm**。
- 流洗液：**9 mM碳酸鈉溶液(稱取碳酸鈉 1.91 g，加去離子水使成2 L)**。
- 流洗液流速：**1.0 mL/min**
- 再生液：**50 mN硫酸溶液(量取1 N硫酸溶液100 mL，加去離子水使成2 L)**。
- 再生液流速：**3.0 mL/min**
- 注入體積：**500 μL**

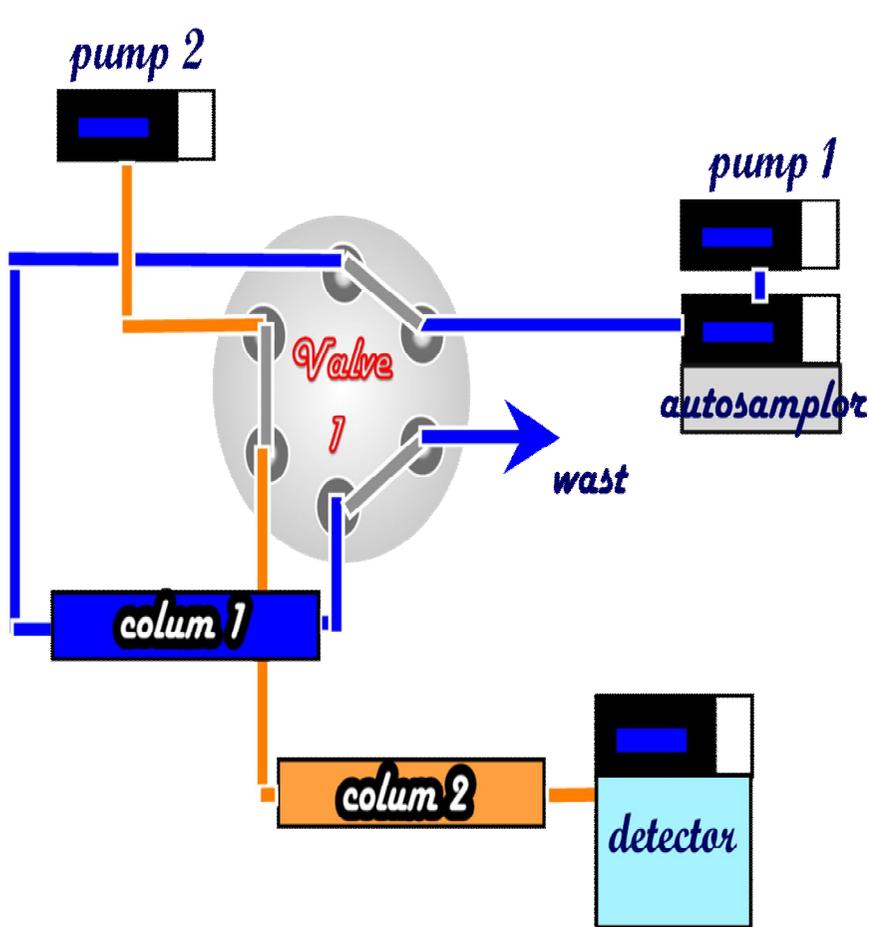
# 注意事項

- 1. 含二氧化碳之檢體應先去除二氧化碳。
- 2. 本檢驗方法之最低檢出限量為2.0 ng/mL。

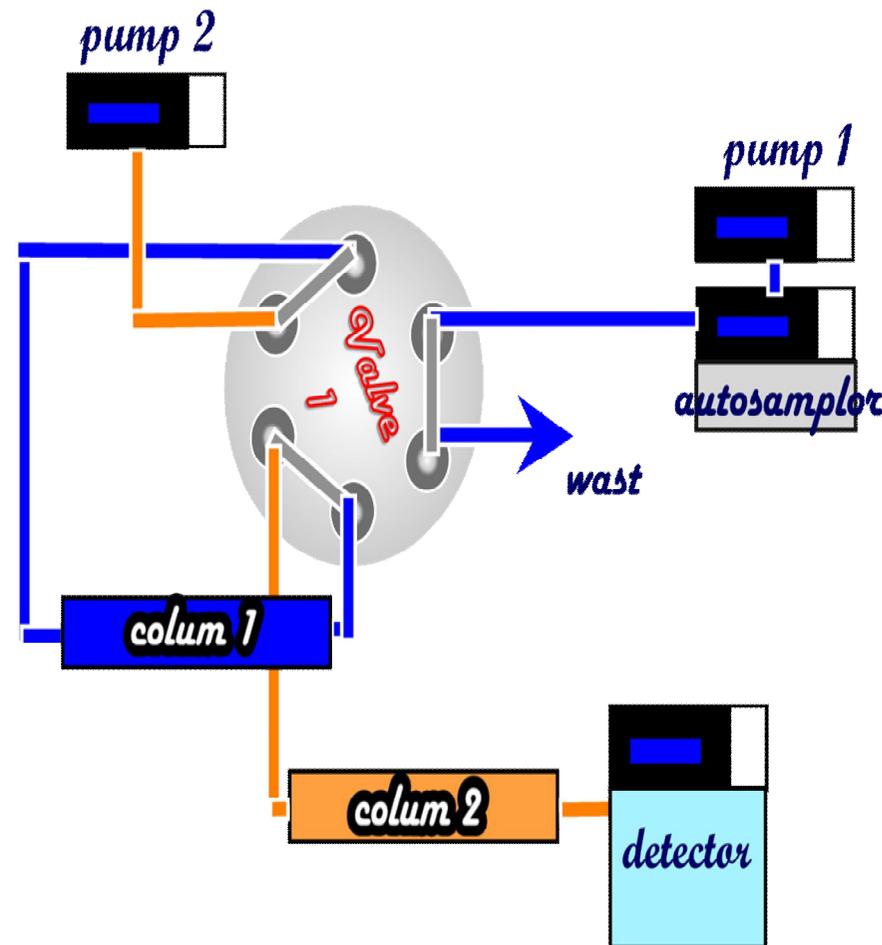
# 以線上淨化高效離子層析法分析 食品中溴酸鹽

蔡等. 2010. 食品藥物研究年報 1: 1-4.

- 將檢體之水萃取液直接以2組串聯之IonPac AS9-HC (4 mm) + IonPac AG9-HC (4 mm)離子層析管柱進行線上淨化及分析，以9 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液為移動相，抑制型電導度(suppressed conductivity)檢出器進行檢測。



1-5分鐘與6分鐘後之管路模式



5-6分鐘時之管路模式

## 線上淨化雙管柱離子層析分向閥及流向示意圖

## 前處理

檢體均質後取約**2.5 g**，精確稱定，加水**25 mL**混合均勻，勿使底部結塊沉澱。振搖**15分鐘**後，再以超音波震盪**15分鐘**。以**10000 rpm**離心**10分鐘**，取上清液經**0.22 μm**濾膜過濾，供作檢液。

# 高效離子層析條件

高效離子層析儀分析條件：

雙管柱分析模式(online IC)：

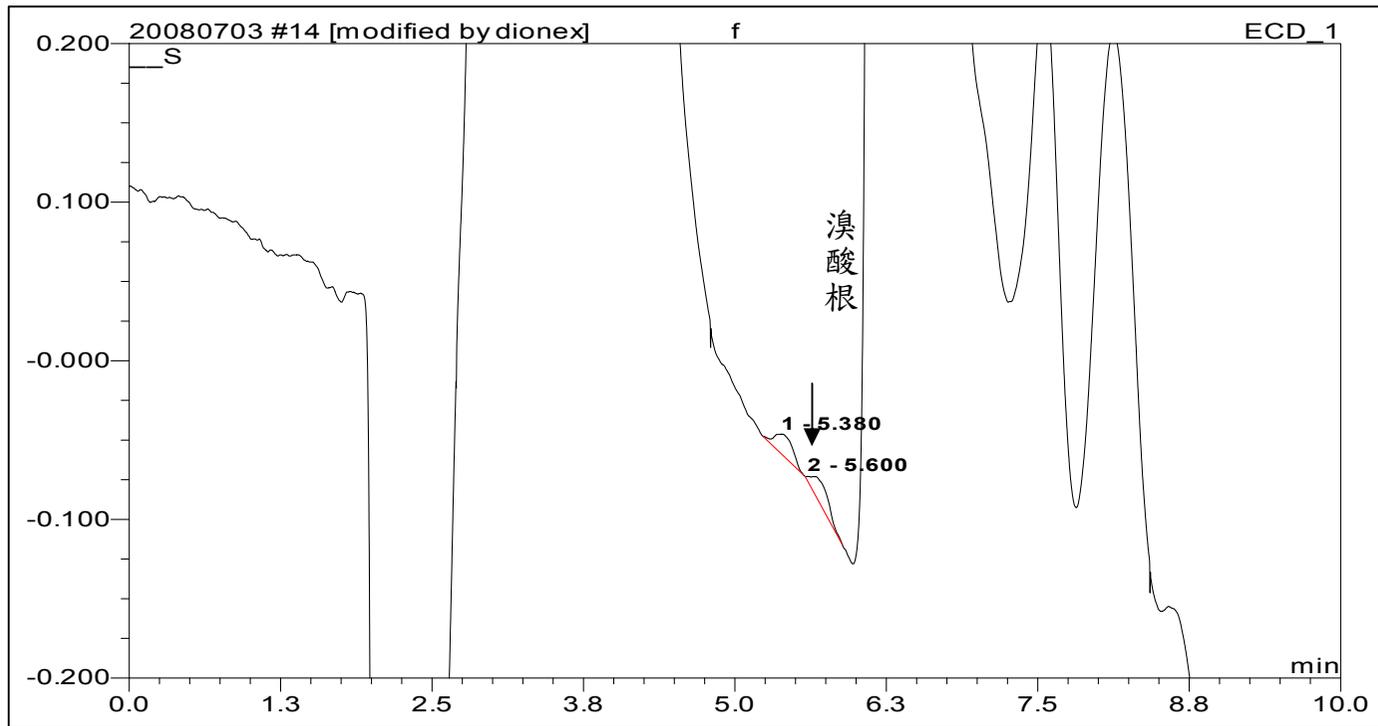
分析管：兩組IonPac AS9-HC層析管與IonPac AG9-HC保護管串接，於溴酸鹽由第一支管柱溶離時的滯留時間，經由分向閥(valve)進入第二支管柱。

流洗液：9 mM碳酸鈉溶液。

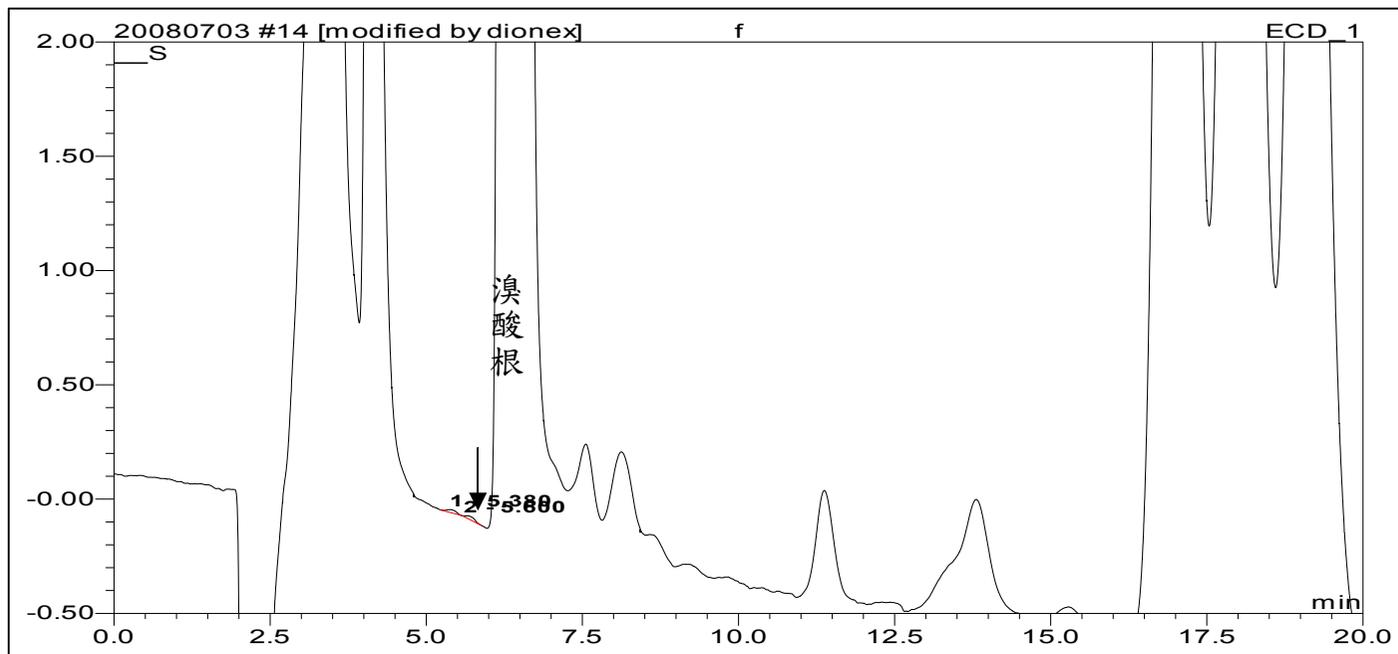
流速：1 mL/min。

檢出器：抑制型導電度檢出器(suppressed conductivity detector)。

注入量：500  $\mu$ L。



**A**



**B**

# 以液相層析法分析水溶性維生素B1、B2、C

(蘇等. 1995. J.Chin. Nutr. 20: 157-172.)

維生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、及 C 之檢驗方法有微生物法<sup>(5)</sup>、螢光光度法<sup>(6,7)</sup>、比色法<sup>(6,8)</sup> 及高效液相層析法 (HPLC 法)<sup>(6,9-26)</sup>。微生物法操作繁雜，需要時間培養，HPLC 法近年來已廣為利用做為分析之工具，但 AOAC<sup>(7)</sup> 仍採用耗時繁重之化學反應方法，本局常用檢驗方法專輯<sup>(8)</sup> 所收載者亦為傳統之化學方法。日本衛生試驗法註解<sup>(6)</sup> 則同時記載化學法及 HPLC 法。傳統之螢光光度法係將檢體中之 thiamine 於酸性下加熱抽出，經酵素分解，再以填充層析管柱淨化，最後再氧化生成螢光衍生物 thiochrome，並利用螢光分光光度計偵測其強度。Riboflavin 之檢驗，係將檢體加酸萃取，經氧化作用除去雜質或經光分解後再測定螢光。HPLC 方法皆省略繁雜之填充層析管柱淨化步驟，而利用 HPLC 層析管達到分離效果。經初步分析比較結果，本研究擬將檢體經酸及酵素處理後，除去蛋白質，採 precolumn 衍生化反應，再利用 HPLC-螢光檢測同時分析 thiamine 及 riboflavin。維生素 C 部份，indophenol 滴定法易受檢體本身顏色干擾，終點不易判定，比色法及螢光光度法，操作繁雜。嬰兒（補助）食品幾乎都添加 AA 當作營養添加劑，含量相當高，因此本實驗擬採用 HPLC-UV 予以測定，以瞭解其實測結果是否與標誌量相符，同時對於準用為抗氧化劑之 IAA 亦一併探討。本研究之目的在於建立簡易且高感度精確之維生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 及 C 檢測法。

# 維生素B1及B2之分析

## 標準溶液之配製

Thiamine 及 riboflavin 混合標準溶液之調製：

精確稱取 thiamine hydrochloride 對照標準品 10 mg 加 0.1N 鹽酸加熱溶解並定容至 100 ml，另精確稱取 riboflavin 對照標準品 10 mg 加溫水溶解，加醋酸數滴，再加水定容至 100 ml，供作標準原液，臨用時將兩種標準原液再以 0.1N 鹽酸稀釋配製成一系列各種不同濃度之混合標準溶液。

# 前處理

(→) Thiamine 及 riboflavin

精確稱取檢體

1 g 於 100 ml 之褐色容量瓶中，加 0.1N 鹽酸 50 ml，充分振搖混合均勻，置於沸水浴中時時攪拌 30 分鐘，放冷，以 2N 醋酸鈉溶液調整 pH 值至 4.0-4.5，分別加 5%  $\alpha$ -amylase 及 takadiastase 溶液各 2 ml，於 48 °C 保持 3 小時，加 50% 三氯醋酸 2 ml 加熱 15 分鐘去除蛋白質，放冷後加水定容至 100 ml。此液再以 Whatman No. 41 濾紙過濾，取濾液 5 ml 置於離心瓶中進行衍生化反應，加鹼性鐵氰化鉀溶液 5 ml，充分混合，放置 1 分鐘，隨即加磷酸 0.8 ml 中和，冷卻後供作定量用檢液。

# 高效液相層析條件

(→) Thiamine 及 riboflavin

分離管：Cosmosil packed column, 5  $\mu\text{m}$ , C18。

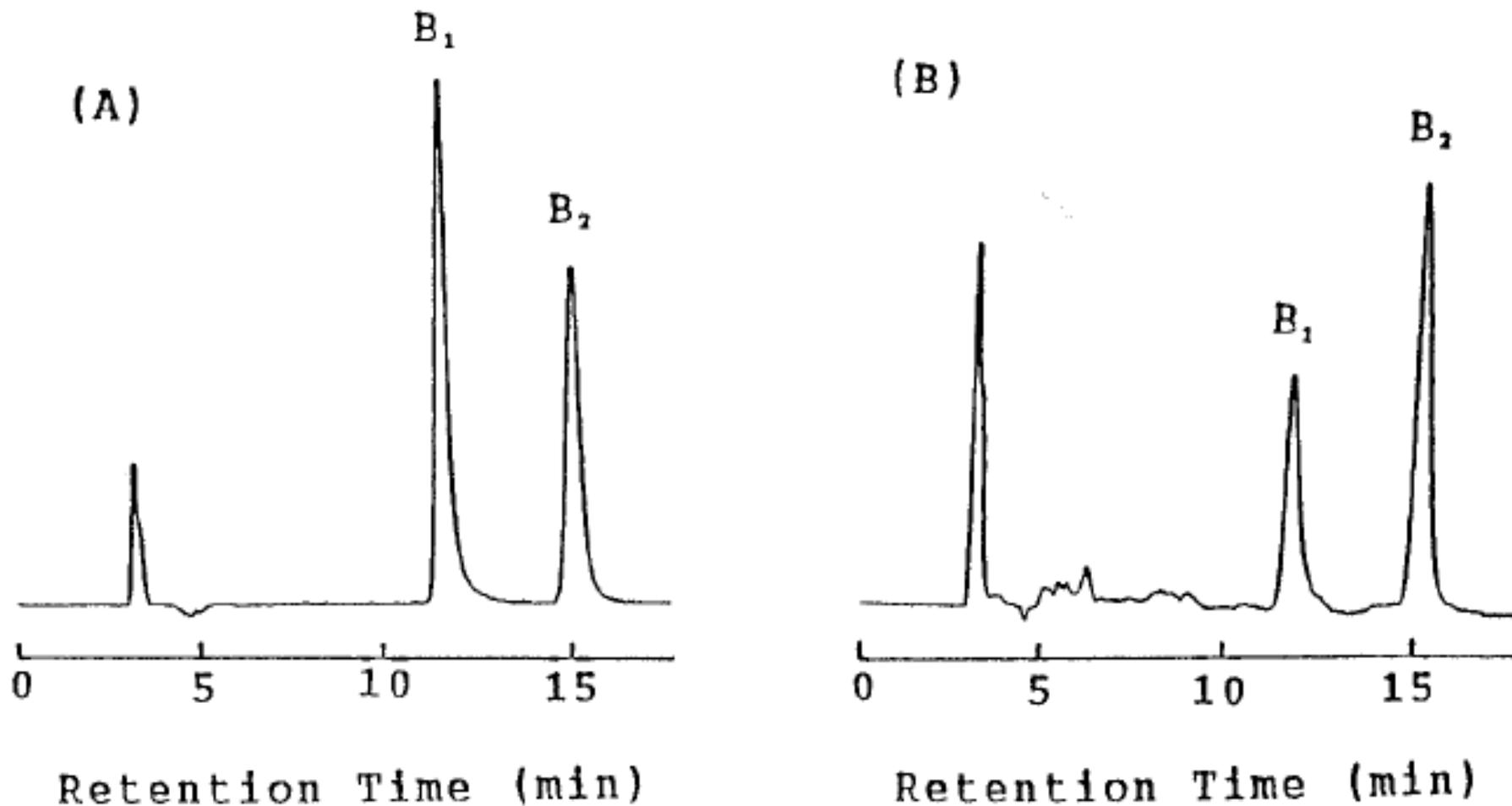
檢出器：螢光檢出器，Ex 370 nm, Em 500 nm。

移動相溶液：甲醇：0.005M PIC A = 25 : 75 (V/V)。

流速：0.9 ml/min。

感度 (attenuation)：3。

注入量：10  $\mu\text{l}$ 。



圖一 Thiamine 及 riboflavin 之液相層析圖譜

Fig. 1 HPLC chromatograms of thiamine and riboflavin.

(A) Mixed standard solutions of 0.12  $\mu\text{g/ml}$  thiamine and riboflavin, (B) infant formula sample.

# 維生素C (AA)及異壞血酸(IAA)之分析

## 標準溶液之配製

AA 及 IAA 混合標準溶液之調製：

精確稱取 AA 及 IAA 對照標準品各 1 g 加偏磷酸－醋酸溶液溶解並分別定容至 100 ml，供作標準原液，再將 AA 及 IAA 原液以偏磷酸－醋酸溶液稀釋配成各種不同濃度之混合標準溶液，臨用時調製。AA 及 IAA 因容易氧化，故標準品應標定其含量。

# 前處理

(二) AA 及 IAA

精確稱取檢體 1 g 於 100 ml 之褐色容量瓶中，加偏磷酸－醋酸溶液 50 ml，充分振搖混合均勻，分別置於超音波振盪器中振盪 5 分鐘及均質器攪拌 2 分鐘，再加偏磷酸－醋酸溶液定容至 100 ml，以 Whatman No. 41 濾紙過濾，濾液供作定量用檢液。

# 高效液相層析條件

## (二) AA 及 IAA

分離器：Cosmosil packed column, 5  $\mu\text{m}$ ,  $\text{NH}_2$ 。

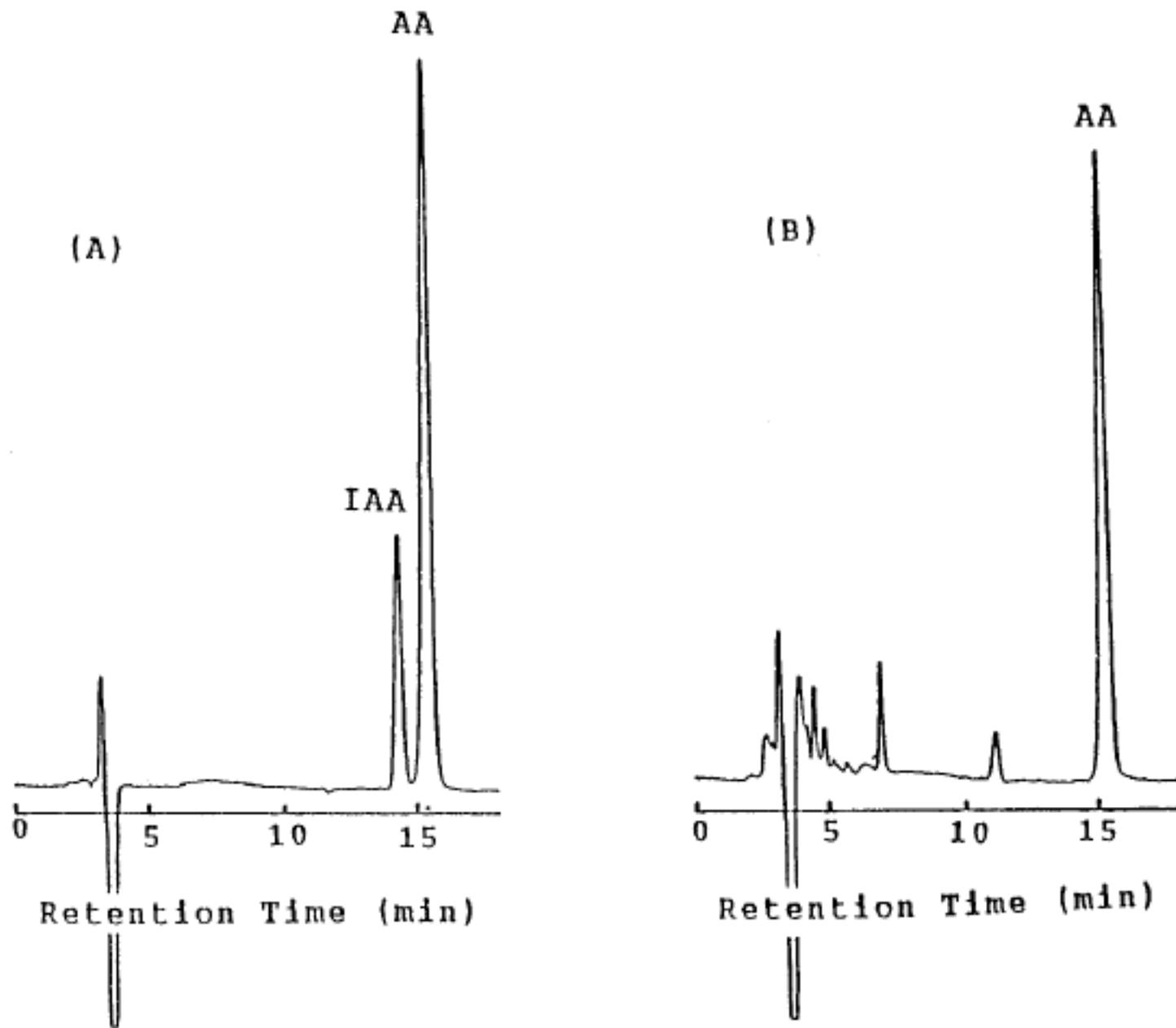
檢出器：紫外光檢出器，254 nm。

移動相溶液：乙睛：水：醋酸 = 75 : 23 : 2 (V/V/V)。

流速：1.0 ml/min。

感度 (attenuation) : 3。

注入量：10  $\mu\text{l}$ 。



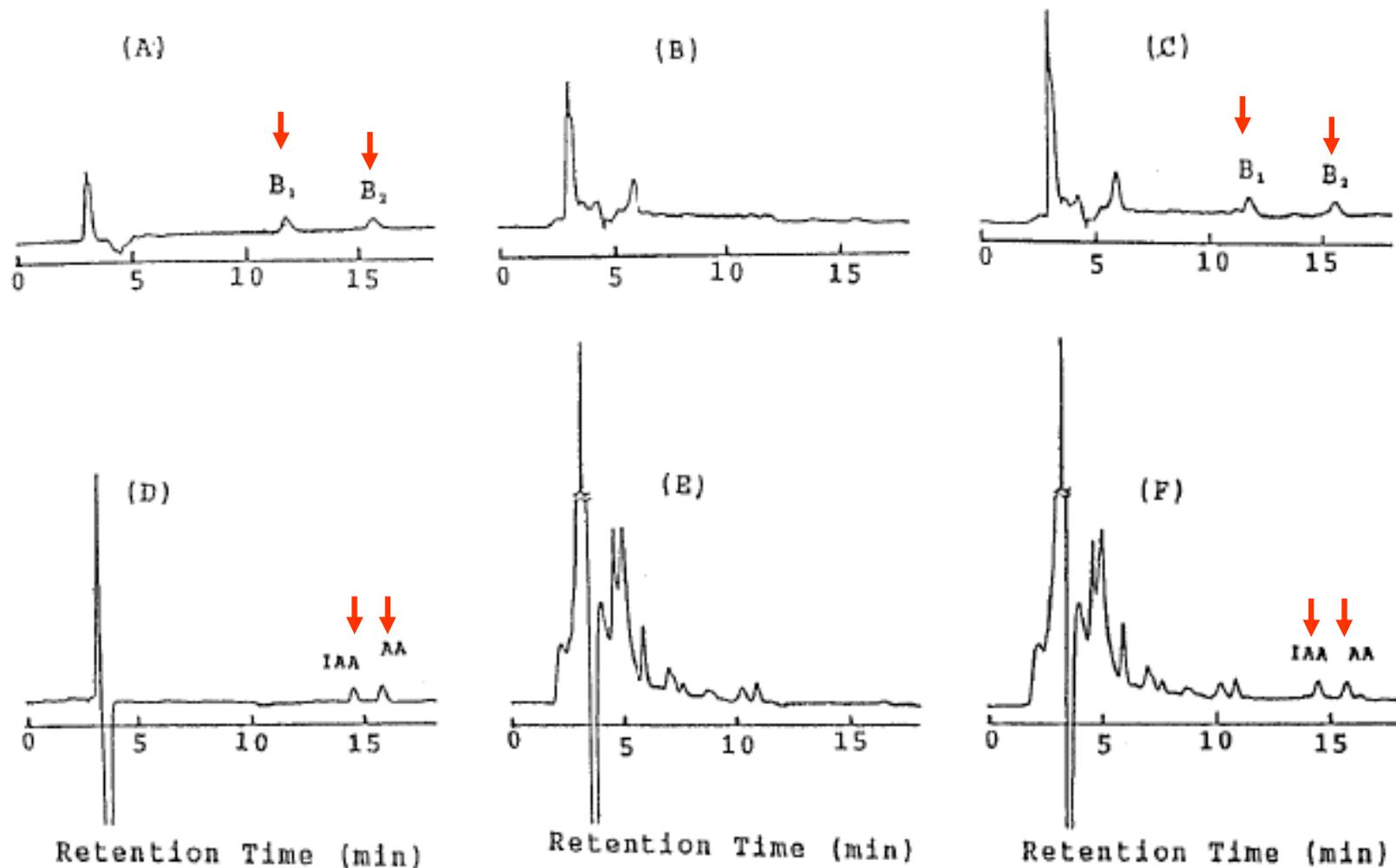
圖二 AA 及 IAA 之液相層析圖譜

Fig. 2 HPLC chromatograms of AA and IAA.

(A) Mixed standard solution of 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AA and 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  IAA,  
(B) infant formula sample.

# 檢出限量及偵測極限

將米麩檢體添加各種濃度之標準溶液，以本實驗建立之方法分別分析 thiamine，riboflavin，AA 及 IAA，經測試結果 thiamine 及 riboflavin 之檢出限量均為 0.6 ppm，偵測極限（注入量 10  $\mu$ l）均為 0.06 ng，此結果均較 Fellman（thiamine 0.5 ng, riboflavin 1.0 ng）<sup>(11)</sup> 及 Augustin（thiamine 0.5ng, riboflavin 1.0 ng）<sup>(12)</sup> 之報導為低，但略高於 Sims 之結果（兩種皆為 0.05 ng）<sup>(22)</sup>，此乃 Sims 採用梯度式之發散波長所導致之差異。AA 及 IAA 之檢出限量皆為 30 ppm，偵測極限（注入量 10  $\mu$ l）為 3 ng。



圖三 Thiamine, riboflavin, AA 及 IAA 之最低檢出限量液相層析圖譜

Fig. 3 HPLC chromatograms of the detection limits of thiamine, riboflavin, AA and IAA.

(A) A Mixed standard solutions of 0.006  $\mu\text{g}/\text{ml}$  each of thiamine and riboflavin.

(B) A rice flour sample.

(C) A rice flour sample spiked with 0.6 ppm each of thiamine and riboflavin.

(D) A mixed standard solution of 0.3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  each of AA and IAA.

(E) A rice flour sample.

(F) A rice flour sample spiked with 30 ppm each of AA and IAA.