

出國報告（出國類別：研究）

食品添加物及非標的物檢測技術研習

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：方俊仁 技士

派赴國家：日本

出國期間：103年10月27日至11月7日

報告日期：103年12月24日

摘要

為因應食品添加物之強制檢驗規定，並希冀瞭解鄰近之日本對於使用食品添加物之相關規範與標準，深入學習日本對於食品添加物中重金屬或其他不純物之品質檢驗技術與方法，本人奉派於 103 年 10 月 27 日至 103 年 11 月 7 日安排前往日本「東京都健康安全研究中心」研習。此次研習內容主要可分為日本食品添加物相關管理法規與標準介紹（歷史背景、食品添加物定義、食品添加物之使用管理、食品添加物公定書及食品中食品添加物檢驗方法）、日本食品添加物品質檢驗方法介紹（色價測定法、砷試驗法、鉛試驗法及費式水分測定法）與日本食品中食品添加物檢驗方法介紹（食品中防腐劑、甜味劑、著色劑、抗氧化劑、亞硝酸鹽及亞硫酸鹽之檢驗）等三大部分，另外還包括參加 2 場專題演講分別是由アジレント・テクノロジー株式会社（Agilent Technologies）介紹「GC, GC/MS 基本故障排除」與ジーエルサイエンス株式会社（GL Sciences）「固相萃取技術基礎介紹」。藉由本次赴日研習之機會，除學習相關食品添加物品質及食品中食品添加物等檢驗技術，亦藉此機會蒐集日本相關法規、標準及檢驗方法之檢索方式及建立未來交流及溝通之管道，惟因東京都健康安全研究中心並無針對非標的物檢測之相關技術可供分享，針對非標的物之檢測未來也將持續尋求其他交流之機會。

關鍵字：規格檢驗、砷試驗法、鉛試驗法、色價、水分測定法

目 次

壹、目的	1
貳、過程	2
一、東京都健康安全中心.....	3
二、日本食品添加物相關管理法規與標準.....	5
(一)、歷史背景.....	5
(二)、食品添加物之定義.....	6
(三)、食品添加物之使用管理.....	6
(四)、食品添加物公定書.....	9
(五)、食品中食品添加物檢驗方法	10
三、日本食品添加物品質檢驗方法介紹.....	12
(一)、色價測定法.....	12
(二)、砷試驗法.....	16
(三)、鉛試驗法.....	27
(四)、費式水分測定法.....	38
四、日本食品中食品添加物檢驗方法介紹.....	41
(一)、食品中防腐劑之檢驗.....	42
(二)、食品中甜味劑之檢驗.....	51
(三)、食品中著色劑之檢驗.....	57
(四)、食品中抗氧化劑之檢驗.....	64
(五)、食品中亞硝酸鹽之檢驗.....	66

(六)、食品中亞硫酸鹽之檢驗.....	67
四、專題演講.....	71
參、心得	75
肆、建議	79

附件：出國分享報告簡報內容

壹、目的

近年來在國內外發生多起不當或非法使用添加物的新聞事件，如 2005 年英國發現辣椒粉中違法使用工業染料—蘇丹紅作為著色之用；2008 年中國大陸發生奶粉中違法添加三聚氰胺以提高氮含量藉此降低成本；2011 年台灣爆發違法添加塑化劑（DEHP 等）於起雲劑中以延長保存期限；2013 年台灣發生違法使用順丁烯二酸酐化製澱粉以改變產品質地並增進口感等，同年發生高價橄欖油混摻低價棉籽油並違法添加銅葉綠素作為著色之用；今年則爆發生鮮肉品中非法添加磷酸鹽類等保水劑藉以提高水分含量並增加產品重量等事件。每次新聞事件的爆發，都會引起媒體輿論與社會大眾的高度重視，更再再凸顯社會大眾對於使用食品添加物之安全性疑慮的關注，合法的使用食品添加物不僅可改善食品物化特性、增加口感、提高品質，創造多元產品的變化，亦可改善生產製程、降低生產或運輸成本及延長產品保存期限等，但相對地，若非法使用食品添加物或其他添加物等卻可能直接或間接地造成消費民眾的健康影響或危害。

今年 8 月 21 日衛生福利部公告「應辦理檢驗之食品業者、最低檢驗週期及其他相關事項」明定食品添加物之製造及輸入業應對其單方食品添加物產品就重金屬或重金屬以外之不純物，對其成品進行檢驗。為因應食品添加物之強制檢驗規定，並希冀瞭解鄰近之日本對於使用食品添加物之相關規範與標準及深入學習日本對於食品添加物中重金屬或其他不純物之品質檢驗技術與方法，於 103 年 10 月 27 日至 103 年 11 月 7 日安排前往日本「東京都健康安全研究中心」研習，除學習相關食品添加物品質及食品中食品添加物等檢驗技術外，亦蒐集日本相關法規、標準及檢驗方法之檢索方式及建立未來溝通管道，惟因東京都健康安全研究中心並無針對非標的物檢測之相關技術可供分享，故本次研習仍以食品添加物之相關檢驗技術交流為主軸。

貳、過程

本次赴日本研習「食品添加物及非標的物檢測技術」，係透過日本「東京都健康安全中心（Tokyo Metropolitan Institute of Public Health）」食品化學部食品添加物研究科長植松洋子博士（Yoko Uematsu, Ph.D.）協助安排至該中心食品添加物研究科進行為期 12 天的食品添加物相關檢驗研習課程，行程及工作記要如表 1 所示。

表 1、東京都健康安全中心研習行程表。

日期	地點	工作記要
2014/10/27	台北—日本東京	起程
2014/10/28 ~ 2014/11/6	東京都健康安全中心 (東京都新宿區)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 日本食品添加物相關管理法規介紹 2. 日本食品添加物品質檢驗方法介紹 <ol style="list-style-type: none"> (1) 色價測定法 (2) 砷試驗法 (3) 鉛試驗法 (4) 費氏水分測定法 3. 日本食品中食品添加物檢驗方法介紹 <ol style="list-style-type: none"> (1) 食品中防腐劑之檢驗 (2) 食品中甜味劑之檢驗 (3) 食品中著色劑之檢驗 (4) 食品中抗氧化劑之檢驗 (5) 食品中亞硝酸鹽之檢驗 (6) 食品中亞硫酸鹽之檢驗 4. 專題演講 (GC/MS 故障排除, SPE 基礎介紹) 5. 文獻蒐集及技術交流管道之建立
2014/11/7	日本東京—台北	返程

一、東京都健康安全中心

東京都健康安全中心位於東京都新宿區百人町3丁目24番1號(圖1)，是東京都負責守護都民生命與健康的科學研究機構，其主要業務為試驗檢查、調查研究、公共衛生情報解析、市場監控等，以確保都內食品、醫藥品、飲用水、生活環境之安全及預防傳染病之發生。

近年來，東京都各種健康問題層出不窮：新型流感病毒的發現、結核病疫情的增加、食安事件的發生、藥物的濫用等，嚴重威脅到都民的生命與健康，故為能更迅速處理這些健康問題，並精進中心之機能，故將中心之本所、多摩支所合併。以下為東京都健康安全中心之成立沿革：



圖 1、東京都健康安全中心正門。

縉1949年3月：	根據厚生省地方衛生研究所的相關設置要綱，設置都立衛生研究所。
縉1998年5月：	別館完成。
縉2003年4月：	設置健康安全研究中心（合併都立衛生研究所，食品指導中心，中部藥事衛生事務所，東部藥事衛生事務所，藥用植物園，市場衛生檢查所多摩6所）。
縉2005年3月：	廢止廣域監視部的東部藥事衛生事務所。
縉2005年4月：	設置廣域監視部醫療機器監事課。
縉2006年4月：	微生物部設置流行病學防疫情報室，整合了保健部的藥理研究科以及病理研究科為生體影響研究科。

繼2007年4月：	設置廣域監視部建築物監視指導課，整合多摩分所理化學研究科及微生物研究科為食品衛生研究科。
繼2008年4月：	企劃管理部的總務科與計畫調整課合併為管理科，環境保健部的環境衛生研究科與水質研究科整合為水質環境研究科。
繼2009年4月：	環境保健部的水質環境研究科改為環境衛生研究所。
繼2012年4月：	企劃管理部改為企劃調整部，健康安全部從企劃管理部及流行病學防疫情報室組織統合為健康危機管理情報課，醫藥品部與環境保健部統合為藥事環境科學部，微量分析研究科廢止，多摩支所廢止，廣域監視部設置食品監視第一課與第二課。
繼2012年5月：	本館完工。

東京都健康安全中心主體建築包含本館與別館（如圖 2），本館設有「廣域監視部」、「精度管理室」、「食品化學部」、「藥事環境科學部」、「企劃調整部」；別館則設有「微生物部」、「藥事環境科學部」。其中「食品化學部」下分為「食品成分研究科」、「殘留物質研究科」、「食品添加物研究科」三科。「食品成分研究科」主要研究領域為食品分析、營養食品、生物應用食品、天然化學及中毒化學等；「殘留物質研究科」主要研究領域為農藥分析與動物用藥等；「食品添加物研究科」主要研究領域為食品添加物、添加物制劑及包裝容器等。此次主要的研習單位為「食品添加物研究科」，其下分為第一研究室、第二研究室及品質容器研究室，正式職員約 35 人，科長為植松洋子博士。

此次非常感謝植松洋子博士費心安排研習課程，研習內容主要可分為日本食品添加物相關管理法規與標準介紹、日本食品添加物品質檢驗方法介紹（色價測定法、砷試驗法、鉛試驗法及費式水分測定法）與日本食品中食品添加物檢驗方法介紹（食品中防腐劑、甜味劑、著色劑、抗氧化劑、亞硝酸鹽及亞硫酸鹽之檢驗）等三大部分，另外還包括參加兩場專題演講分別為「GC, GC/MS 基本故障排除」與「固相萃取技術基礎介紹」。

(A)



(B)



圖 2、東京都健康安全中心主體建築 (A) 及案內圖 (B)。

二、日本食品添加物相關管理法規與標準

(一)、歷史背景

日本在 1947 年，由當時的厚生省（現稱為厚生労働省）頒布了關於食品安全與衛生的第一個綜合性法案《食品衛生法》（Food Sanitation Act, FSA），並實施食品添加物正面表列制度。在此正面表列制度下，只有經由厚生労働省指定（designated）屬於安全之食品添加物才能被使用於食品中。自 1947 年起，日本所有食品添加物的管理都依循食品衛生法，然而當時的正面表列系統僅針對化學合成之食品添加物並未涵蓋天然來源之食品添加物，直到 1995 年，食品衛生法經過修訂後，才將之納入列表系統管理，目前除了一些例外，所有類型的食品添加物（包含化學合成與天然來源）都已經納入正面表列系統管理。

在日本，食品衛生相關的法令、告示、通達等內容可透過「厚生労働省」官方網站首頁中「所管の法令等」標籤頁進入查找，內容包含《食品衛生法施行令》、《食品衛生法》及《食品衛生法施行規則》等相關條文內容。參考連結網址如下：

<http://www.hourei.mhlw.go.jp/hourei/>

此外，英文版的相關食品衛生法令與標準參考等則可透過「日本貿易振興機

構」(Japan External Trade Organization, JETRO)的英文網站首頁中「Reports and Statistics」標籤頁進入後，點選「Standards and Regulations」連結進入，即可找到英文版的相關法規與標準之列表。參考連結網址如下：

<http://www.jetro.go.jp/en/reports/regulations/>

(二)、食品添加物之定義

在日本《食品衛生法》的第一章即定義「食品添加物」為「用於食品製造過程中，或為加工食品、保存食品等目的所添加、混合或滲入之物質」。因此，食品添加物包含會殘留在最終產品（如防腐劑、甜味劑及著色劑等）及不會殘留在最終產品（如殺菌劑和助濾劑等）。總言之，在日本，用於上述目的的所有物質不管是否源自於天然來源，均被歸類於食品添加物。相較於國際食品法典委員會（Codex Alimentarius Commission）所規範的食品添加物並不包含加工輔助用劑（如助濾劑）、維生素、礦物質、胺基酸及香料等，在日本，均被歸類於食品添加物。

(三)、食品添加物之使用管理

在日本，食品添加物可分為指定添加物（Designated additives）、既存添加物（Existing food additives）、天然香料（Natural flavoring agents）及一般飲食物添加物（Ordinary foods used as food additives）等四大類。

1. 指定添加物及既存添加物

原則上，根據日本《食品衛生法》第 10 條，只能使用日本厚生勞動省所指定的添加物（指定添加物），除了上述指定添加物以外，亦能使用的添加物僅包含既存添加物、天然香料及一般飲食物添加物。

(1) **指定添加物**：係指經日本厚生勞動省所指定的物質，列於「指定添加物リスト」中，表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0>

[02041df/407593771b8750e94925690d0004c83e?OpenDocument](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-desin.add-x)

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-desin.add-x>

一般而言，該類物質對於健康不至造成危害，截至 2014 年 8 月 8 日，上述「指定添加物リスト」中所列之指定添加物共計有 443 個品項，其中第 63 項「エステル類」香料中又可再細分為 18 類，具體品項表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0>

[02041df/56c24b8c667b15c149256d6d001bf8ab?OpenDocument](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0)

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/3c317649651fcf154925682>

[300214735/e632ccc7811fb7c649256d7200272dd7?OpenDocument#Estes](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/3c317649651fcf154925682)

- (2) **既存添加物**：在日本，除了前述指定添加物以外，尚有部分例外之添加物，沒有透過特定的指定程序，但卻是可被許許使用的，主要原因是該類物質在日本已被長期使用且過去具有被人類長期食用的歷史，該類物質稱為「既存添加物」，列於「既存添加物名簿」中，表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0>

[02041df/c3f4c591005986d949256fa900252700?OpenDocument](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0)

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-exst.add>

過去該類物質並未納入食品添加物管理，直到 1995 年，因為日

本《食品衛生法》的修訂，而將之納入管理，至此，所有食品添加物不管是化學合成或天然來源均納入正面表列系統管理，截至 2014 年 1 月 30 日，上述「既存添加物名簿」中所列之既存添加物共計有 365 個品項。

- (3) **添加物使用基準**：當使用訂有食品添加物使用基準（適用之目標食品範圍及最大使用量或殘留量）之食品添加物時，應符合其規範，上述使用基準列於「添加物使用基準リスト」中，表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec002041df/980837ba5d9b0d28492575d6000785e6?OpenDocument>

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/stanrd.use>

該「添加物使用基準リスト」包含大部份之指定添加物及部分既存添加物，但其中部分指定添加物及既存添加物並未訂有使用基準，如維生素、胺基酸等營養強化劑等。

2. 其他食品添加物

除了指定添加物與既存添加物以外，另外有兩大類物質沒有被涵蓋於正面表列系統中，分別為天然香料與一般飲食物添加物

- (1) **天然香料**：此類物質屬於天然產物，主要源自於動物或植物體（如香草風味及螃蟹風味等），作為增加風味之使用，通常使用量非常少，僅需少量即可產生明顯之風味，列於「天然香料基原物質リスト」中，表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec0>

[02041df/b949aef970492f0b4925684600083647?OpenDocument](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-exst.add)

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-exst.add>

上述「天然香料基原物質リスト」中所列之天然香料基原物質共計有 613 個品項。

- (2) 一般飲食物添加物：此類物質一般作為食用或飲用之食品，但也可用作食品添加物（如草莓汁和寒天等），列於「一般飲食物添加物リスト」中，表列於下列網址：

日文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec002041df/58c1b6daef61dfa04925684600097831?OpenDocument>

英文版：

<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/list-general.provd.add>

上述「一般飲食物添加物リスト」中所列之一般飲食物添加物共計有 104 個品項。

（四）、食品添加物公定書

《食品添加物公定書》係根據日本《食品衛生法》第 21 條所製成，主要規定了食品添加物的成分規格、製造基準及品質確保方法，該公定書內容可參考下列網址：

http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/kouteisho8e.html

主要包含 1. 通則、2. 一般試驗法、3. 試葉・試液等、4. 成分規格・保存規格及 5. 製造基準等，其中「通則」部分主要針對該書中所使用到單位、符號或其他共通性敘述加以明定與說明，「成分規格・保存規格」主要載明各食品添

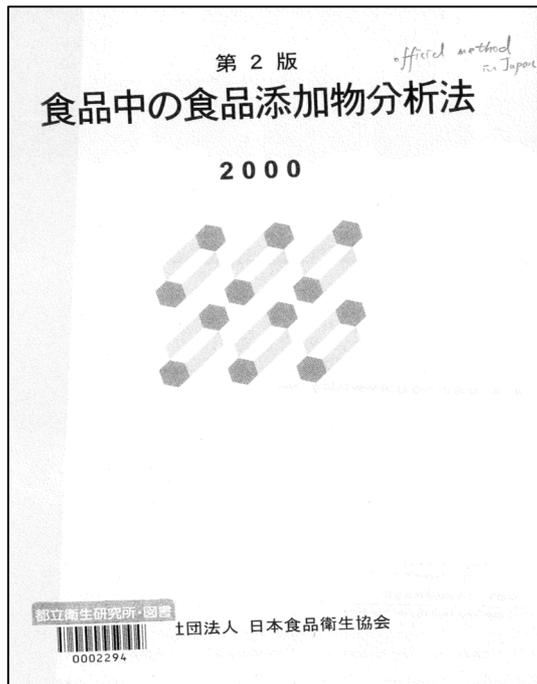
加物之規格標準與品質檢驗方法，一般包含定義、含量、性狀、確認試驗、純度試驗及定量法等內容，其中部分食品添加物因為純度（如カンゾウ抽出物粗製物與精製物等）或形態（イオン交換樹脂粒狀、粉狀與懸濁液等）的差異而有多種不同規格標準。在「確認試驗」及「純度試驗」中共通性的試驗方法則載於「一般試驗法」，另有關食品添加物品質檢驗方法中所使用到試藥或試液之配置方法則敘述於「試藥・試液等」中。

（五）、食品中食品添加物檢驗方法

在日本，針對食品中食品添加物的檢驗方法可分成以下 5 種不同層次：

1. 官方方法（Official methods）：包含日本政府（厚生労働省）於網站所公告之《食品中の食品添加物分析法》、日本食品衛生協會所出版的《第 2 版食品中の食品添加物分析法》（如圖 3）及彙編於《食品衛生試驗方法指引》之檢驗方法。
2. 準官方方法（Quasi-official methods）：如日本藥學會所編撰之《衛生試驗法・註解》（如圖 4）。
3. 其他國家政府國際組織允許使用之檢驗方法：如 AOAC Official Methods 等，主要為因應發生突發事件，日本國內無相關之檢驗方法時，可根據國際組織或其他國家所允許使用之檢驗方法，進行方法驗證或確效後作為日本國內分析檢驗之用。
4. 發表於科學期刊之檢驗方法：當國內外均無相關官方方法可使用時，可參考國內外科學期刊中所發表之檢測方法，進行方法驗證或確效後作為日本國內分析檢驗之用。
5. 內部方法（In-house methods）：當上述方式均找不到相關之檢驗方法時，可使用檢驗單位內部所自行開發之檢測方法，進行方法驗證或確效後作為日本國內分析檢驗之用。

(A)



(B)

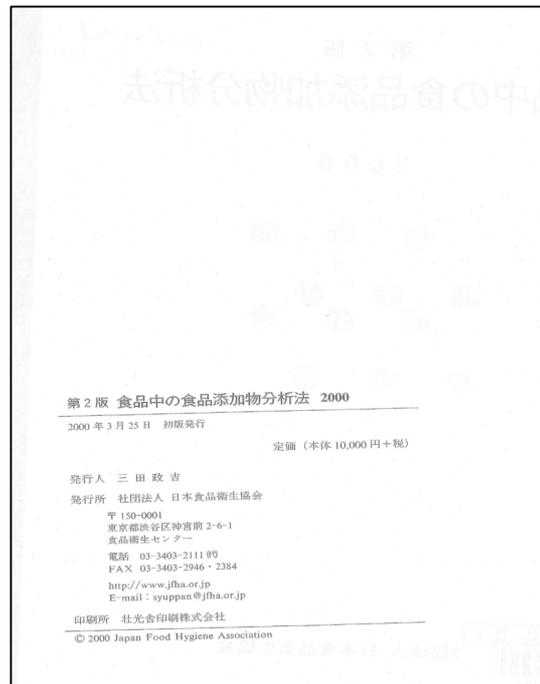
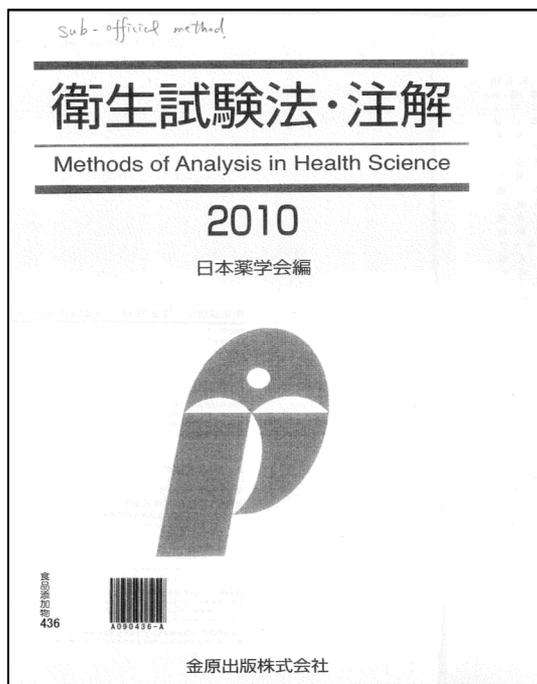


圖 3、《第 2 版食品中の食品添加物分析法》封面 (A) 及封底 (B)。

(A)



(B)

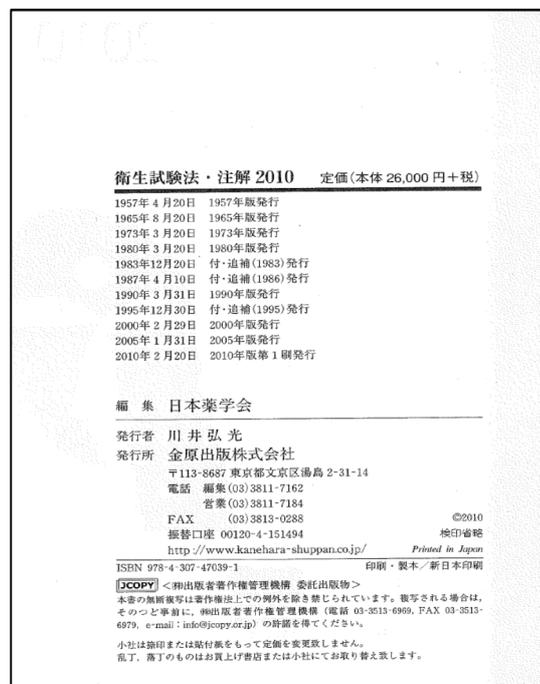


圖 4、《衛生試験法・注解》封面 (A) 及封底 (B)。

三、日本食品添加物品質檢驗方法介紹

在日本，食品添加物的「規格檢驗」稱作食品添加物「品質檢驗」，本次參訪的東京都健康安全中心食品化學部食品添加物研究科即擔負執行相關品質檢驗的工作，主要針對食品添加物的性狀、含量及不純物等進行試驗，以確認該食品添加物品質是否符合《食品添加物公定書》中所載明的成分規格，進而確保下游廠商或消費者能購買到品質符合法規的食品添加物。本次研習即針對食品添加物品質檢驗中一般試驗法之砷試驗法(ヒ素試驗法)、色價測定法(色価測定法)、鉛試驗法(鉛試験法)及費式水分測定法(水分測定法カールフィッシャー法)等項目進行學習與實作，其中鉛試驗法所使用的方法為目前最新的試驗方法，將被收錄於未來即將公佈的日本《食品添加物公定書》最新版本(第9版)，以下將針對研習過程中所學習到的品質檢驗方法進行詳細介紹。

(一)、色價測定法

1. 試驗目的：

本試驗法是藉由吸光度之測定，來檢測著色劑中色素之濃度(色價)，但因為色素之組成複雜，無法個別定量，僅以吸光度表示整體色素之濃度。色價是著色劑溶液的吸光度以 10 % (w/v) 溶液所換算之數值，通常以符號 ($E_{1cm}^{10\%}$) 表示。此吸光度是指在可見光波長範圍中，最大吸收波長下之吸光度。

2. 試藥：

- (1) 溶液 1：稱取 10.5 g 檸檬酸單水合物 (Citric Acid Monohydrate, $H_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$)，以二次水溶解並定容至 500 mL。
- (2) 溶液 2：稱取 35.8 g 磷酸氫二鈉十二水合物 (Disodium Hydrogen Phosphate Dodecahydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)，以二次水溶解並定容至 500 mL。
- (3) 檸檬酸緩衝液 (pH 5.0)：以體積比 97：103，混合溶液 1 與溶

液 2 (取 195 mL 溶液 1 與 206 mL 溶液 2 混合)，並以酸鹼試紙
確認緩衝溶液是否 pH 值是否接近 5。

3. 裝置：分光光度計 (SHIMADZU UV-2700)，如圖 5。

4. 檢液之製備：

依檢品之色價標示值

(Carthamus Yellow，色價標示值
為 400)，參照表 2 所描述之方
式進行取樣與稀釋¹，以確保吸光
度數值介於 0.3-0.7。精稱²指定量
之檢品 (0.15 g)，並將檢品置於
50 mL 定量瓶中，以約 10 mL 之
指定溶劑〔檸檬酸緩衝液(pH 5.0)〕

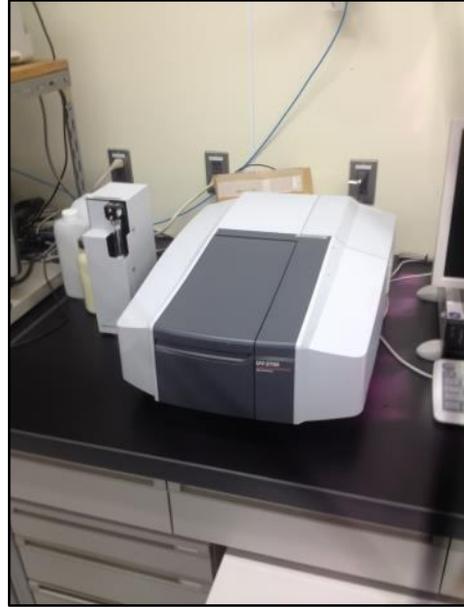


圖 5、SHIMADZU UV-2700 外觀。

溶解，並定容至 50 mL，所得之
溶液作為檢品溶液。根據表 2 所述，將檢品溶液以指定溶劑稀釋 20 倍
作為檢液，取 2.5 mL 檢品溶液置於另一 50 mL 定量瓶中，以指定溶劑
〔檸檬酸緩衝液 (pH 5.0)〕定容至標線處，所得之溶液作為檢液。

¹取樣量可視實際操作需求予以酌減，惟定容與稀釋體積應以等比例減少。

²先利用一般天平，秤取檢品於秤樣紙上，利用分析天平以空白定量瓶歸零，再將置於秤樣
紙上之檢品小心移入定量瓶中，讀取定量瓶中檢品精確重量，記錄之。

表 2、色價測定法檢品取樣與稀釋方式參考表。

色價	檢測濃度(%)	吸光度	稀釋方法	稀釋體積(mL)	稀釋倍率
20	0.025	0.5	0.25 g→100 mL	100	1
50	0.10	0.5	0.1 g→100 mL	100	1
100	0.05	0.5	0.5 g→100 mL→10 mL→100 mL	1,000	10
200	0.03	0.6	0.6 g→100 mL→5 mL→100 mL	2,000	20
400	0.015	0.6	0.3 g→100 mL→5 mL→100 mL	2,000	20
500	0.01	0.5	0.2 g→100 mL→5 mL→100 mL	2,000	20
700	0.01	0.7	0.2 g→100 mL→5 mL→100 mL	2,000	20
800	0.0625	0.5	0.25 g→100 mL→5 mL→200 mL	4,000	40
900	0.005	0.45	0.2 g→100 mL→5 mL→200 mL	4,000	40
1,000	0.006	0.6	0.3 g→100 mL→5 mL→250 mL	5,000	50
1,500	0.003	0.6	0.4 g→100 mL→5 mL→50 mL→5 mL→50 mL	10,000	100
2,000	0.003	0.6	0.3 g→100 mL→5 mL→50 mL→5 mL→50 mL	10,000	100
2,500	0.002	0.5	0.2 g→100 mL→5 mL→50 mL→5 mL→50 mL	10,000	100

5. 試驗流程：

使用分光光度計前，應先開機並暖機 1 小時再開始進行吸光值測定，使用 1 cm 之比色槽，在指定波長（400-408 nm）下檢測檢液之吸光度（A），以與製備檢液所用之相同溶劑〔檸檬酸緩衝液（pH 5.0）〕潤洗比色槽並作為空白校正。依照下列公式（式 1）計算色價。若所得之色價超過表 2 之最大值，則重新調整稀釋倍率。

$$\text{色價 (Color value)} = \frac{10 \times A \times F}{\text{取樣量(g)} \times \frac{100}{\text{檢品溶液體積(mL)}}} \quad (\text{式 1})$$

A = 檢液之吸光度

F = 檢液稀釋倍率（使吸光值介於 0.3-0.7）

6. 試驗結果：

以 *Carthamus Yellow* 為檢品，進行色價測定法，所進行三重複試驗之試驗結果如下表（表 3）所示，根據前述色價計算公式計算檢品之色價值，惟因本次試驗之檢品取樣量為表 2 所述取樣量（0.3 g）之一半（0.15 g）且定容體積亦以等比例減半為 50 mL，故計算公式應調整為下式（式 2），調整原因乃因色價係以濃度為 10 %（w/v）溶液所測得之吸光值計算而來，故應將實際檢品取樣量乘以 2，以換算為當定容體積為 100 mL 時之檢品量。根據表 3 所示最大吸收波長接近 400 nm 與品質標準所規範之波長範圍（400-408 nm）相符，且色價測定值亦介於檢品色價標示值之 90-110%（360-440）與品質標準相符。

$$\text{色價 (Color value)} = \frac{10 \times A \times 20}{\text{取樣量(g)} \times \frac{100}{50(\text{mL})}} \quad (\text{式 2})$$

表 3、色價測定之試驗結果。

項次	檢品取樣量(g)	最大吸收波長(nm)	吸光值 (A)	色價
#1	0.15648	400.80	0.606	387
#2	0.14554	400.00	0.577	396
#3	0.15650	401.20	0.610	390
平均值	0.15284	400.7	0.598	391

7. 注意事項：

- (1) 檢液製備完後，應立即進行吸光值測定，以避免褪色造成之影響。
- (2) 檢液經適當稀釋後，吸光度須落於 0.3-0.7 之範圍內。

(二)、砷試驗法

1. 試驗目的：

本試驗法是用於檢測檢品之砷含量是否超過其規定之限量。此限量是以 As_2O_3 計。

2. 試藥：

- (1) 稀醋酸溶液 (1→4)：取 1 mL 冰醋酸，以二次水定容至 4 mL。
- (2) 醋酸鉛試液：稱取 11.8 g 之醋酸鉛，以二次水溶解並定容至 100 mL，再加入 2 滴稀醋酸溶液 (1→4)，保存於密閉之容器中。
- (3) 硝酸鎂乙醇溶液(1→50)：稱取 1g 硝酸鎂六水合物(Magnesium Nitrate Hexahydrate, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$)，以乙醇 (95%) 定容至 50 mL。
- (4) 稀鹽酸溶液 (1→4)：取 1 mL 濃鹽酸，以二次水定容至 4 mL。
- (5) 稀鹽酸溶液 (1→2)：取 1 mL 濃鹽酸，以二次水定容至 2 mL。
- (6) 碘化鉀試液：臨用前配置，稱取 16.5 g 碘化鉀(Potassium Iodide, KI)，以二次水溶解並定容至 100 mL，避光保存。

- (7) 酸性氯化亞錫儲備試液：稱取 32 g 氯化亞錫 (Tin(II) Chloride, SnCl_2)，以 100 mL 濃鹽酸溶解
- (8) 酸性氯化亞錫試液：臨用前配置，取酸性氯化亞錫儲備試液以稀鹽酸溶液 (1→2) 稀釋 20 倍 (體積)。
- (9) 砷吸收液：溶解 0.50 g 二乙基二硫代氨基甲酸銀 (Silver Diethyldithiocarbamate, $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{AgNS}_2$) 於吡啶中，並以吡啶定容至 100 mL。保存於密封且避光之瓶子中，並置於陰涼處。
- (10) 氫氧化鈉溶液 (1→5)：取 1 g 氫氧化鈉 (Sodium Hydroxide, NaOH)，定容至 5 mL。
- (11) 稀硫酸溶液 (1→20)：取 1 mL 濃硫酸，定容至 20 mL。
- (12) 砷標準儲備溶液：將三氧化二砷 (Diarsenic Trioxide, As_2O_3) 磨成細粉狀，並於 105°C 烘乾 1 小時後，精稱 0.10 g 三氧化二砷，溶解於 5 mL 氫氧化鈉溶液 (1→5) 溶解，再以稀硫酸溶液 (1→20) 中和。加入 10 mL 稀硫酸溶液 (1→20) 及預先煮沸並冷卻之二次水，定容至 1000 mL，貯存於 4°C。於此標準儲備溶液中砷含量為 0.1 mg As_2O_3 / mL。
- (13) 砷標準溶液：精量 10 mL 砷標準儲備溶液，加入 10 mL 稀硫酸溶液 (1→20) 及預先煮沸並冷卻之二次水，定容至 1000 mL。此標準溶液中砷含量為 1 μg As_2O_3 / mL。臨用前現配，並



圖 6、砷標準溶液應保存於玻璃塞瓶中。



圖 8、排氣管 B 中裝入玻璃纖維棉 F，高度約 30 mm。



圖 9、以醋酸鉛試液/水混合溶液均勻將玻璃纖維 F 潤濕。



圖 10、水流抽氣幫浦裝置圖。



圖 11、利用水流抽氣幫浦將玻璃纖維 F 與排氣管 B 管壁上多餘之混合溶液由排氣管 B 管底部開口抽去。

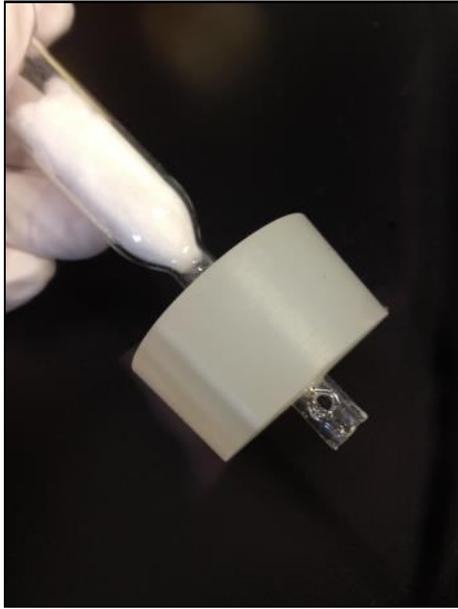


圖 12、排氣管 B 下端的小孔 E 微地露出於橡膠塞 H。



圖 13、將玻璃管 C 垂直地固定於橡膠塞 J。

4. 檢液與品管樣品之製備：

稱取指定量之檢品 (Glycerol

Ester of Fatty Acids, 0.50 g ;

Starch, 0.50 g)，將其置於白金、石英或瓷製坩鍋中 (如圖 14)，

加入 10 mL 硝酸鎂乙醇溶液³

(1→50) 點火 (如圖 15)，緩緩

加熱坩鍋至 450-550°C，使坩鍋內

液體蒸乾 (如圖 16)。待坩鍋冷

卻後，將其移入灰化爐中灰化⁴。灰化後，取出坩鍋觀察⁵，若有黑色碳



圖 14、稱取指定量檢品於坩鍋中。

³ 加入硝酸鎂主要目的是避免砷在加熱過程中逸失，硝酸鎂在加熱情況下分解產生氧化鎂，氧化鎂除了保溫傳熱外，更能防止砷的揮發，樣品在加熱過程中所產生的三氧化二砷 (酸性氧化物) 可被氧化鎂 (鹼性氧化物) 固定下來。

⁴ 灰化爐升溫梯度：0-250°C (10 分鐘)，250°C 維持 50 分鐘，250-520°C (10 分鐘)，520°C

化物殘留（如圖 17），則應再加入少量⁶硝酸鎂乙醇溶液（1→50），重複上述步驟，直至檢品完全灰化，亦即坩鍋內無黑色碳化物殘留（如圖 18）。待坩鍋冷卻後，加入 3 mL 鹽酸，使用玻棒來回刮動坩鍋表面以溶解殘留物（如圖 19），置於沸水浴上加熱使殘留物完全溶解（如圖 20），並將此溶液作為檢液。在此溶解過程中，須注意勿使檢液蒸乾⁷。

品管樣品包含陽性控制組（Positive control）與陰性控制組（Negative control）兩組，其中陽性控制組為取 2.0 mL 之砷標準溶液（ $1 \mu\text{g As}_2\text{O}_3 / \text{mL}$ ）置於坩鍋中，陰性控制組則不加任何東西於坩鍋中，之後操作步驟同上述檢液製備流程。



圖 15、加入硝酸鎂乙醇溶液點火。



圖 16、緩緩加熱至 450-550°C，使坩鍋內液體蒸乾。

維持 16 小時，520-130°C（1 小時）。

⁵ 應待灰化爐溫度冷卻至 200°C 以下才能打開灰化爐，取出坩鍋觀察。維持 16 小時，520-130°C（1 小時）。

⁶ 加入約 2-3 mL 硝酸鎂乙醇溶液。

⁷ 若加熱至坩鍋內液體蒸乾，會造成砷逸失。



圖 17、坩鍋內黑色碳化物殘留，灰化不完全。



圖 18、坩鍋內無黑色碳化物殘留，灰化完全。



圖 19、使用玻棒來回刮動坩鍋表面以溶解殘留物。



圖 20、沸水浴加熱使殘留物完全溶解。

5. 試驗流程：

(1) 檢液：

在檢液中加入 1 滴溴酚藍試液，以氨水（25%）或稀鹽酸溶液（1→4）中和之，使檢液由橘黃色（如圖 21）變為紫色（如圖 22）。加入 5 mL 稀鹽酸溶液（1→2）及 5 mL 碘化鉀試液⁸，

⁸ 加入碘化鉀作為還原劑，將檢液中 5 價砷還原成 3 價砷： $AsO_4^{3-} + 2I^- + 2H^+ \rightarrow AsO_3^{3-} + I_2 + H_2O$

靜置 2 分鐘。加入 5 mL 酸性氯化亞錫試液⁹，靜置 10 分鐘。將檢液由坩鍋移至發生瓶中，以二次水潤洗坩鍋，並將洗液合併入發生瓶中，最後以二次水定容至 40 mL。加入 2 g 無砷鋅粒¹⁰（如圖 23），迅速將發生瓶 A 與已裝上排氣管 B 及玻璃管 C 的橡膠塞 H 連接（如圖 24），並將玻璃管 C 之尖端插入裝有 5 mL 砷吸收液（如圖 25）的吸收管 D 之底部（如圖 26）。之後，將發生瓶 A 浸入水中至瓶肩部（如圖 27），並維持水溫為 25 °C，反應 1 小時後，將吸收管 D 取下，以吡啶定容至 5 mL。觀察吸收管 D 內溶液之呈色¹¹，其呈色不得較標準色為深。



圖 21、檢液加入 1 滴溴酚藍試液而呈橘黃色。



圖 22、滴加氨水，使檢液由橘黃色變為紫色。

⁹ 加入酸性氯化亞錫亦作為還原劑，將檢液中 5 價砷還原成 3 價砷： $AsO_4^{-3} + Sn^{+2} + 2H^+ \rightarrow AsO_3^{-3} + Sn^{4+} + H_2O$

¹⁰ 加入鋅粒，產生 AsH_3 氣體： $AsO_3^{-3} + 3Zn + 9H^+ \rightarrow AsH_3 \uparrow + 3Zn^{2+} + 3H_2O$

¹¹ 產生之 AsH_3 氣體在有機鹼（吡啶）存在環境下會與二乙基二硫代氨基甲酸銀反應而產生游離態之膠狀銀（Colloidal Silver）而呈現紅紫色（ λ_{max} 約 535 nm）： $AsH_3 \uparrow + (C_2H_5)_2NCSSAg \rightarrow free\ colloidal\ Ag$ （紅紫色）



圖 23、迅速加入 2 g 無砷鋅粒。

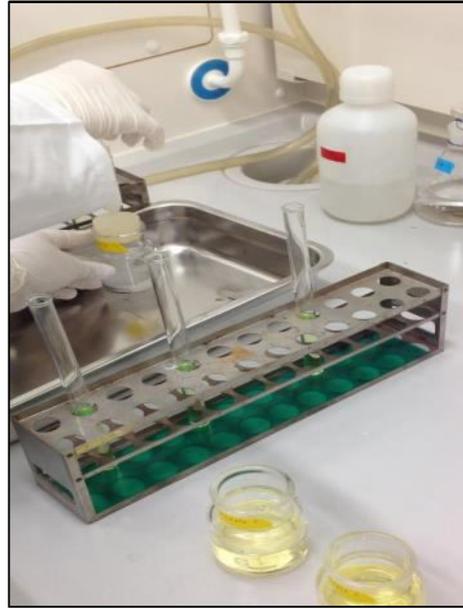


圖 24、迅速連接發生瓶 A、排氣管 B 及玻璃管 C。

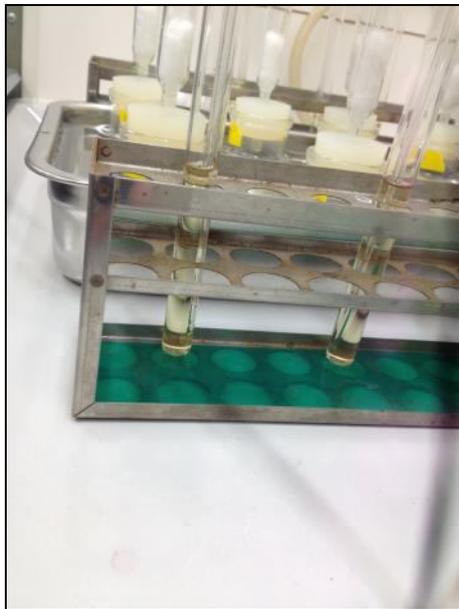


圖 25、裝有 5 mL 砷吸收液的吸
收管 D。



圖 26、並將玻璃管 C 尖端插入吸
收管 D 底部。



圖 27、將發生瓶 A 浸入水中至瓶肩部。

(2) 對照溶液：

取 2.0 mL 之砷標準溶液 ($1 \mu\text{g As}_2\text{O}_3 / \text{mL}$) 於發生瓶中，加入 5 mL 稀鹽酸溶液 (1→2) 及 5 mL 碘化鉀試液，靜置 2 分鐘。加入 5 mL 酸性氯化亞錫試液，靜置 10 分鐘，以二次水定容至 40 mL。加入 2 g 無砷鋅粒，迅速將發生瓶 A 與已裝上排氣管 B 及玻璃管 C 的橡膠塞 H 連接，並將玻璃管 C 之尖端插入裝有 5 mL 砷吸收液的吸收管 D 之底部。之後，將發生瓶 A 浸入水中至瓶肩部，並維持水溫為 25°C ，反應 1 小時後，將吸收管 D 取下，以吡啶定容至 5 mL，是為標準對照組。將其吸收管 D 內溶液之呈色定為標準色。

另應進行空白對照組，除發生瓶中不加砷標準溶液，其餘步驟同上。

6. 試驗結果：

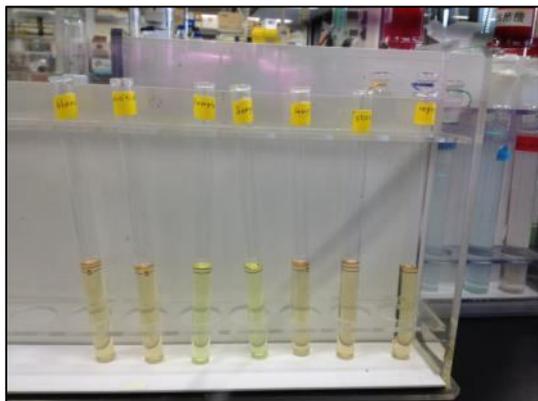
分別以 Glycerol Ester of Fatty Acids 與 Starch 為檢品，進行砷試驗法，所進行三重複試驗之試驗結果如下圖（圖 28）所示，在進行高溫灰化後，發現裝有 Starch 之坩鍋內尚有黑色碳化物殘留（如圖 17），遂再加入 3 mL 硝酸鎂乙醇溶液（1→50）於坩鍋中，點火，緩緩加熱坩鍋至 450-550℃，使坩鍋內液體蒸乾。待坩鍋冷卻後，將其移至灰化爐中再進行一次灰化，此次灰化完後，取出坩鍋觀察無黑色碳化物殘留，亦即完全灰化，可進行下一步加入 3 mL 鹽酸，沸水浴加熱使殘留物溶解。由圖 X（A）之結果可發現空白對照組（Blank）與陰性控制組

（Negative Control）均有明顯呈色且呈色深淺接近標準對照組（Standard）與陽性控制組（Positive）組，顯示在操作 Glycerol Ester of Fatty Acids 之試驗過程中可能發生污染情況，造成原本不應該有明顯呈色之空白對照組與陰性控制組產生呈色，檢討原因可能是由於使用到非現配之碘化鉀試液造成呈色結果異常，另在滴加試劑時未按空白對照（陰性控制組）、檢液及標準對照（陽性控制組）之順序滴加，可能也會造成污染發生，因此在操作後續 Starch 之試驗時，臨用時新鮮配置碘化鉀試液，另滴加試劑時特別注意滴加順序以避免可能污染情形之發生，由圖 28（B）之結果可發現僅有標準對照組有明顯呈色，而檢液三重複與空白對照組均無明顯呈色，顯示檢品中砷含量符合品質標準。

7. 注意事項：

- (1) 試驗所使用之試藥、裝置須不含有砷，必要時可進行空白試驗。
- (2) 試驗流程中，滴加試劑時均應按空白對照（陰性控制組）、檢液及標準對照（陽性控制組）之順序滴加，避免造成污染發生。

(A)



(B)

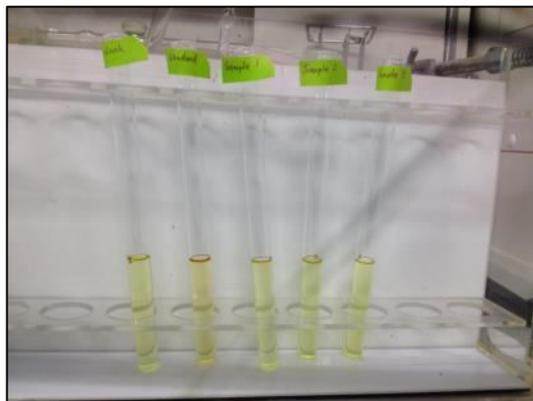


圖 28、砷試驗法之試驗結果（Glycerol Ester of Fatty Acids, A; Starch, B）。

Blank：空白對照；Standard：標準對照；

Positive：陽性控制組；Negative：陰性控制組；

Sample 1-3：檢液三重複。

(三)、鉛試驗法

1. 試驗目的：

本試驗法是藉由原子吸收光譜儀，來檢測檢品之鉛含量是否超過其規定之限量，本方法為即將刊載於日本《食品添加物公定書》(第9版)之最新試驗方法，利用螯合劑(吡咯烷二硫代氨基甲酸銨)將鉛螯合形成錯合物，再利用有機溶劑(乙酸丁酯)將該錯合物萃取出來，進行原子吸收光譜分析定量其中之鉛含量。

2. 試藥

(1) 稀硫酸溶液(1→4)：取 1 mL 濃硫酸，以二次水定容至 4 mL。

(2) 稀鹽酸溶液(1→4)：取 1 mL 濃鹽酸，以二次水定容至 4 mL。

(3) 稀硝酸溶液(1→100)：取 1 mL 濃硝酸，以二次水定容至 100 mL。

(4) 鉛標準儲備溶液：市售鉛標準儲備溶液，鉛含量為 1,000 μg / mL。

(5) 鉛標準液 (1 μg / mL) : 精量 0.1 mL 鉛標準儲備溶液，以稀硝酸溶液 (1 \rightarrow 100) 定容至 100 mL，此標準溶液中鉛含量為 1 μg / mL。

(6) 檸檬酸氫二銨緩衝溶液 (1 \rightarrow 2) : 取 1 g 檸檬酸氫二銨 (Diammonium Hydrogen Citrate, $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$)，以二次水定容至 2 mL。

(7) 百里酚藍試液: 稱取 0.1 g 百里酚藍 (Thymol Blue, $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{S}$)，以 100 mL 乙醇溶解 (95%, vol)。若必要可進行過濾。

(8) 吡咯烷二硫代氨基甲酸銨溶液 (3 \rightarrow 100) : 取 3 mL 原子吸收光譜用之吡咯

烷二硫代氨基
甲酸銨

(Ammonium
Pyrrolidine

Dithiocarbama
te, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$)，

以二次水定容
至 100 mL。



圖 29、HITACHI Z-20000 外觀。

2. 裝置：原子吸收光譜儀 (HITACHI Z-2000)，如圖 29。

3. 檢液與品管樣品之製備：

(1) 方法一

稱取檢品 2 g (L-Ascorbic Acid)，將其置於白金、石英、瓷製坩鍋或石英燒杯中，若檢品為水溶液樣品，則先使用加熱板緩慢加熱，直至水分蒸乾。以約 1-2 mL 稀硫酸溶液¹²(1 \rightarrow 4)

¹² 若檢品為液態或難碳化，則改用濃硫酸。

潤濕檢品（如圖 30）。使用加熱板緩慢地加熱（每次升溫間隔為 20°C），過程中需不時利用坩鍋夾夾起坩鍋輕敲底部側緣，避免檢品因加熱使表面結塊而充氣膨脹造成噴濺，另可藉此翻攪坩鍋內之檢品（如圖 31）以確保檢品內部碳化完全。加熱過程中可觀察檢品會由原本的透明液態狀，因溶劑逐漸蒸發而乾燥，持續加熱檢品顏色漸由白色轉為黃色，進而轉變為黃褐色，隨著溫度升高，顏色逐漸變深最後呈現黑色，加熱直至檢品完全碳化呈現黑色且不再產生 SO₃ 白煙（如圖 32），加熱升溫過程應儘可能低溫且最高溫度不要超過 400°C。如仍有白色未碳化物殘留，則可再加入 1-2 mL 稀硫酸溶液（1→4），重複上述步驟，直至檢品完全碳化。待坩鍋冷卻後，移入灰化爐中灰化¹³。灰化結束後，取出坩鍋觀察，若灰化不完全，亦即有黑色碳化物殘留（如圖 33），則可再加入 1 mL 稀硫酸溶液（1→4）及 1 mL 濃硝酸，使用加熱板緩慢地加熱（圖 34），直至不再產生 SO₃ 白煙。待坩鍋冷卻後，移入灰化爐中灰化，直至檢品完全灰化。取出坩鍋待冷卻後，加入 10 mL 稀鹽酸溶液（1→4），沸水浴加熱直到溶液蒸乾。之後，加入少量稀硝酸溶液（1→100），沸水浴加熱使殘留物溶解（如圖 35），待冷卻後，以濾膜過濾（PTFE, 0.45μm）至 10 mL 樣品管中（如圖 36），並以稀硝酸溶液（1→100）定容至 10 mL，以此溶液作為檢液。

品管樣品包含陽性控制組（Positive control）與陰性控制組（Negative control）兩組，其中陽性控制組為取 4.0 mL 之鉛標準溶液（1 μg Pb/ mL）置於坩鍋中，陰性控制組則不加任何東西於坩鍋中，之後操作步驟同上述檢液製備流程。

¹³ 以 520°C 加熱灰化 16 小時。



圖 30、以稀硫酸溶液潤濕檢品。



圖 31、以坩鍋夾夾起坩鍋輕敲底部側緣翻攪坩鍋內之檢品



圖 32、加熱至檢品完全碳化呈現黑色。



圖 33、有黑色碳化物殘留，灰化不完全。



圖 34、若灰化不完全，可再加入稀硫酸溶液及濃硝酸，使用加熱板緩慢地加熱。



圖 35、沸水浴加熱使殘留物溶解。



圖 36、以濾膜過濾至 10 mL 樣品管中。

(2) 方法二

稱取檢品 2 g (Trisodium Citrate)，將其置於白金、石英、瓷製坩鍋或石英燒杯中，若檢品為水溶液樣品，則先使用加熱板緩慢加熱，直至水分蒸乾。以約 1-2 mL 稀硫酸溶液¹⁴(1→4)潤濕檢品。使用加熱板緩慢地加熱（每次升溫間隔為 20°C），過程中需不時利用坩鍋夾夾起坩鍋輕敲底部側緣，避免檢品因加熱使表面結塊而充氣膨脹造成噴濺，另可藉此翻攪坩鍋內之檢品以確保檢品內部碳化完全。加熱過程中可觀察檢品會由原本的透明液態狀，因溶劑逐漸蒸發而乾燥，持續加熱檢品顏色漸由白色轉為黃色，進而轉變為黃褐色，隨著溫度升高，顏色逐漸變深最後呈現黑色，加熱直至檢品完全碳化呈現黑色且不再產生 SO₃ 白煙，加熱升溫過程應儘可能低溫且最高溫度不要超過 400°C。如仍有白色未碳化物殘留，則可再加入 1-2 mL 稀硫酸溶液(1→4)，重複上述步驟，直至檢品完全碳化。待坩鍋冷卻後，移入灰化爐中灰化¹⁵。灰化結束後，取出坩鍋觀察，若灰化不完全，亦即有黑色碳化物殘留，則可再加入 1 mL 稀硫酸溶液(1→4)及 1 mL 濃硝酸，使用加熱板緩慢地加熱，直至不再產生 SO₃ 白煙。待坩鍋冷卻後，移入灰化爐中灰化，直至檢品完全灰化。

取出坩鍋待冷卻後，加入 10 mL 稀鹽酸溶液(1→4)(如圖 37)，沸水浴加熱直到溶液蒸乾(如圖 38)。之後，加入 20 mL 稀鹽酸溶液(1→4)，蓋上錶玻璃，使用加熱板加熱使殘留物溶解(如圖 39)。

¹⁴ 若檢品為液態或難碳化，則改用濃硫酸。

¹⁵ 以 520°C 加熱灰化 16 小時。



圖 37、加入 10 mL 稀鹽酸溶液。



圖 38、沸水浴加熱直到溶液蒸乾。

冷卻後加入 10 mL 檸檬酸氫二銨緩衝溶液(1→2)(如圖 40)及 1-2 滴百里酚藍試液(如圖 41),以氨水中和之,使溶液顏色變為淡黃綠色,或使用 pH 試紙,以氨水將溶液 pH 調整至 8-9(如圖 42)。將溶液移至分液漏斗或 100 mL 離心管中,再以二次水潤洗坩鍋,並將洗液合併至分液漏斗或離心管中,最終溶液體積約為 45 mL。加入 5 mL 吡咯烷二硫代氨基甲酸銨溶液(3→100),靜置 5 分鐘。加入 10 mL 乙酸丁酯,出現明顯分層(如圖 43),使用震盪器震盪萃取 5 分鐘後(如圖 44),靜置或離心(3,000 rpm, 10 分鐘)(如圖 45)。取上層之乙酸丁酯層約 8 mL 作為檢液(如圖 46)。



圖 39、以加熱板加熱使殘留物溶解。

品管樣品包含陽性控制組 (Positive control) 與陰性控制組 (Negative control) 兩組，其中陽性控制組為取 4.0 mL 之鉛標準溶液 (1 $\mu\text{g Pb}/\text{mL}$) 置於坩鍋中，陰性控制組則不加任何東西於坩鍋中，之後操作步驟同上述檢液製備流程。



圖 40、加入檸檬酸氫二銨緩衝溶液。



圖 41、加入 1-2 滴百里酚藍試液。



圖 42、以 pH 試紙測試溶液 pH 是否達 8-9。

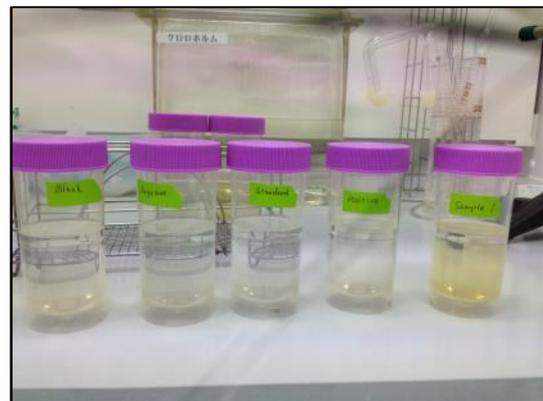


圖 43、加入乙酸丁酯，出現分層。



圖 44、震盪器震盪萃取 5 分鐘。



圖 45、離心 (3,000 rpm, 10 分鐘)。

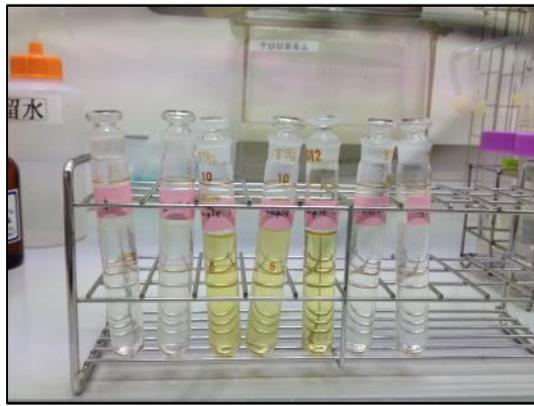


圖 46、離心後取上層之乙酸丁酯層作為檢液。

5. 試驗流程：

(1) 方法一

➤ 檢液：

利用火焰原子吸收光譜儀測定檢液中鉛含量。

➤ 對照溶液：

取 4.0 mL 之鉛標準液 (1 $\mu\text{g} / \text{mL}$)，以稀硝酸溶液 (1→100) 定容至 10 mL，是為標準對照組。利用火焰原子吸收光譜儀測定檢液中鉛含量。

另應進行空白對照組，以 10 mL 稀硝酸溶液(1→100)

作為空白對照，同樣以火焰原子吸收光譜儀測定檢液中鉛含量。

➤ 火焰原子吸收光譜儀條件：

⊙ 光源：鉛中空陰極管

⊙ 分析波長：283.3 nm

⊙ 輔助氣體：空氣

⊙ 燃燒氣體：乙炔

(2) 方法二

➤ 檢液：

利用火焰原子吸收光譜儀測定檢液中鉛含量。

➤ 對照溶液：

取 4.0 mL 之鉛標準液 (1 μg / mL) 至分液漏斗或離心管中，加入 10 mL 檸檬酸氫二銨緩衝溶液 (1→2)，加入 1-2 滴百里酚藍試液，以氨水中和之，使溶液顏色變為淡黃綠色，或使用 pH 試紙，以氨水將溶液 pH 調整至 8-9。將溶液移至分液漏斗或 100 mL 離心管中，再以二次水潤洗坩鍋，並將洗液合併至分液漏斗或離心管中，最終溶液體積約為 45 mL。加入 5 mL 吡咯烷二硫代氨基甲酸銨溶液 (3→100)，靜置 5 分鐘。加入 10 mL 乙酸丁酯，出現明顯分層，使用震盪器震盪萃取 5 分鐘後，靜置或離心 (3,000 rpm，10 分鐘)。取上層之乙酸丁酯層約 8 mL，是為標準對照組。利用火焰原子吸收光譜儀測定檢液中鉛含量。

另應進行空白對照組，除分液漏斗或離心管中不加鉛標準液，其餘步驟同上。

- 火焰原子吸收光譜儀條件：
 - ⊙ 光源：鉛中空陰極管
 - ⊙ 分析波長：283.3 nm
 - ⊙ 輔助氣體：空氣
 - ⊙ 燃燒氣體：乙炔

6. 試驗結果：

分別以 L-Ascorbic Acid 與 Trisodium Citrate 為檢品，進行鉛試驗法之方法一與方法二，所進行三重複試驗之試驗結果如下表(表 4)所示。方法一與方法二在檢液製備流程大致相同，惟方法二在流程後半段利用到檸檬酸氫二銨緩衝溶液控制 pH 值，並以吡咯烷二硫代氨基甲酸銨作為螯合劑與鉛形成錯合物，再利用乙酸丁酯將所形成之錯合物自水層中萃取至有機層，之後的流程都是利用火焰原子吸收光譜儀測定檢液中的鉛含量。由表 4 之吸光值結果可發現，不管是方法一或二，陽性控制組均與標準對照組接近，顯示此檢液製備流程之鉛回收率都超過 90%，另一方面，陰性控制組與空白對照組均接近 0，顯示試驗過程中沒有發生污染之情形，最後，由於檢液三重複所測得之吸光值均較標準對照組為低，結果顯示檢品中鉛含量符合品質標準。

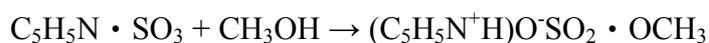
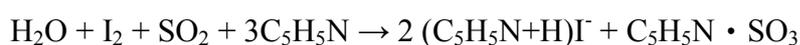
表 4、鉛試驗法之試驗結果。

項次	方法一 (L-Ascorbic Acid)		方法二 (Trisodium Citrate)	
	檢品取樣量(g)	吸光值	檢品取樣量(g)	吸光值
Positive	-	0.0030	-	0.0065
Negative	-	0.0001	-	0.0001
#1	2.0926	0.0001	2.0979	0.0001
#2	2.0217	0.0002	2.0307	0.0003
#3	2.0650	0.0001	2.0058	0.0002
Blank	-	0.0000	-	0.0001
Standard	-	0.0033	-	0.0069

(四)、費式水分測定法

1. 試驗目的：

本試驗法是藉由水、碘及二氧化硫在少量醇類（例如甲醇）及有機鹼（例如吡啶）之存在下所進行之定量反應，來檢測著檢品之水分含量，其反應式如下：



藉由測量與檢品中的水反應所消耗之碘量，則可計算出檢品之水分含量。

2. 試藥：

(1) 水分測定用氯化鈣：氯化鈣（CaCl₂）

(2) 水分測定用甲醇：使用水分含量未超過 0.05%（w/v）的甲醇；

或者，以下述方法來製備：於 1,000 mL 的甲醇中，加入 5 g 的鎂粉，在連接有水分吸收管的回流裝置下加熱，水分吸收管內

填充有氯化鈣。如有必要，可加入 0.1 g 氯化汞以加速反應。
當氣體不再散出時，在避濕的狀況下蒸餾，並避濕保存。

(3) 水分測定用吡啶：使用水分含量未超過 0.05% (w/v) 的吡啶，
或者，以下述方法來製備：於吡啶中加入氫氧化鉀或氧化鋇，
密封並靜置數天。在避濕的狀況下蒸餾混合物，並避濕保存。

(4) 水分測定用試液：稱取 63 g 碘，以 100 mL 水分測定用吡啶溶
解，並於冰中冷卻。在上述溶液中通入乾燥的二氧化硫，直至
溶液之重量增加 32.3 g。接著，加入水分測定用甲醇定容至 500
mL，靜置 24 小時或更久。將試液置於陰涼處，避光避濕保存。
因為此試液會隨時間劣化，使用前必須先標定。

3. 裝置：

包括自動滴定管、滴定瓶、攪拌子、定電壓電流滴定系統或定電流
電壓滴定系統。因水分測定用試劑吸濕性很強，故此裝置應能避濕，通
常使用吸濕劑如矽膠，或是水分測定用氯化鈣等。本試驗使用 KEM
MKA-610 容量法卡式水份自動測定儀（如圖 47）進行檢品中水分含量
測定。



圖 47、KEM MKA-610 容量法卡式水份自動測定儀外觀。

4. 試驗流程：

(1) 標定：

在乾燥的滴定瓶中加入 25 mL 水分測定用甲醇，以水分測定用試液預滴定至終點。精稱 50 mg 的水，並將其迅速地加入上述滴定瓶中，以水分測定用試液滴定至終點。依照下列公式（式 3）計算 1 mL 水分測定用試液所相當之水的 mg 數（f）。本試驗使用自動測定儀，以微量注射針筒吸取約 30 μ L 二次水迅速注入儀器之滴定瓶中，自動進行標定。

$$f = \frac{\text{加入之水重(mg)}}{\text{水分測定用試液滴定量(mL)}} \quad (\text{式 3})$$

(2) 滴定：

在乾燥的滴定瓶中加入 25 mL 水分測定用甲醇，以水分測定用試液預滴定至終點。精稱水分含量約為 10-50 mg 之檢品，將其迅速地加入上述滴定瓶中，攪拌溶解，之後，邊劇烈攪拌，邊以水分測定用試液滴定至終點。依照下列公式（式 4）計算水分含量。本試驗使用自動測定儀測定水分含量，秤取檢品 0.2 g (Citric Acid)，迅速加入儀器之滴定瓶中，自動進行測定。

$$\text{水分含量 (\%)} = \frac{\text{水分測定用試液滴定量 (mL)} \times f}{\text{檢品量 (mg)}} \times 100 (\%) \quad (\text{式 4})$$

f = 1 mL 水分測定用試液所相當之水的 mg 數

5. 試驗結果：

以 Citric Acid 為檢品，進行費式水分測定法，首先進行水分測定用試液之標定，標定結果如表 5 所示，再進行檢品之四重複試驗，試驗結果表 6 所示，由表 6 可知檢品中平均水分含量為 8.441% \leq 8.8%，結果顯示檢品中水分含量符合品質標準。

表 5、水分測定用試液之標定結果。

項次	加入之水重 (mg)	滴定體積 (mL)	力價 f (mg 水/mL)
#1	29.7	5.8250	5.0987
#2	29.9	5.7800	5.1730
#3	29.6	5.8400	5.0685
平均值	29.7	5.8150	5.1134
標準差	-	-	0.054
RSD (%)	-	-	1.052

表 6、費式水分測定法之試驗結果。

項次	檢品量 (mg)	滴定體積 (mL)	水分含量 (%)
#1	195.9	3.165	8.261
#2	133.8	2.230	8.522
#3	156.2	2.630	8.610
#4	206.5	3.380	8.370
平均值	173.1	2.851	8.441
標準差	-	-	0.155
RSD (%)	-	-	1.841

四、日本食品中食品添加物檢驗方法介紹

東京都健康安全中心每年均會進行例行性的後市場監控，針對東京都內所販售的食物產品進行抽樣檢驗，針對產品外包裝標示之食品添加物是否符合使用基準進行確認，同時亦會針對特定可能遭非法使用之添加物進行篩檢，以確保民眾可以買到安全、安心的產品。例行性的檢驗項目主要包含防腐劑（保存料）、甜

味劑（合成甘味料）、著色劑（着色料）、抗氧化劑（酸化防止劑）、亞硝酸鹽（亜硝酸塩）和亞硫酸鹽與二氧化硫（二酸化硫黄及び亜硫酸塩類）等試驗，以下將針對東京都健康安全中心執行上述食品中食品添加物之檢驗所使用之檢驗方法流程進行概要介紹。

（一）、食品中防腐劑之檢驗

進行市售產品中防腐劑之檢驗項目包含苯甲酸（鹽）、去水醋酸（鹽）、己二烯酸（鹽）及對羥苯甲酸酯類（對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸正丙酯、對羥苯甲酸異丙酯、對羥苯甲酸正丁酯、對羥苯甲酸異丁酯）等，樣品前處理方式主要包含兩種，分別為：透析法（Dialysis）與水蒸氣蒸餾法（Steam distillation），所得到之檢液再利用高效能液相層析搭配光二極體陣列式檢測器（HPLC-DAD）進行檢測，檢測結果若需進一步確認則會搭配使用液相層析串聯質譜儀（LC/MS）或氣相層析串聯質譜（GC/MS）儀進行檢測。

完整之檢驗流程如圖 48、食品中防腐劑之檢驗流程。所示，樣品首先會使用透析法進行前處理再搭配液相層析進行檢測，若檢測結果為「未檢出」或是「符合」產品外包裝標示之防腐劑使用基準則結束實驗，出具檢驗報告；但若檢測結果「不符合」使用基準或是「無法判定」時，則改用水蒸氣蒸餾法進行前處理再搭配液相層析進行復驗，若結果仍然「不符合」或「無法判定」時，則採用液相層析串聯質譜儀（LC/MS）或氣相層析串聯質譜（GC/MS）儀進行檢測，並由不同人員重新進行一次試驗以確認結果之正確性，稱為「交叉確認」（Cross-check）。

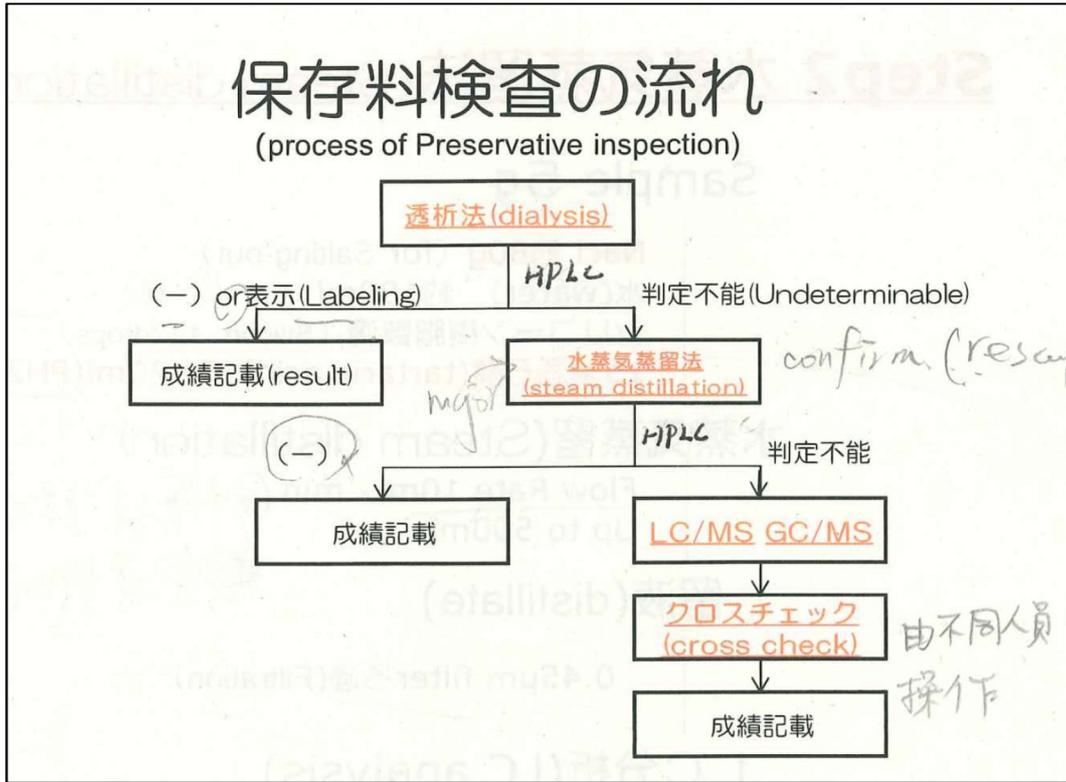


圖 48、食品中防腐劑之檢驗流程。

以下分別針對樣品前處理方法與層析條件加以說明：

1. 樣品前處理方法：

(1) 透析法：

取預先膨潤清洗之透析膜 36/32 (如圖 49)(UC 36-32-100, 透過分子量 14,000, 孔徑 50 Å, 平面寬度 44 mm, 直徑 28 mm, 膜厚 0.0203 mm, Viskase Companies, Inc.), 一端打結, 將另一端開口端小心套上粉體漏斗, 秤取 10 g 樣品裝入透析膜中, 加入 30% 甲醇溶液 50 mL 於透析膜內 (如圖 50), 按壓透析膜開口端, 小心擠壓透析膜將膜內氣體趕出後將透析膜打結 (如圖 51), 並於打結處綁上塑膠繩以利提取 (如圖 52), 將裝有樣品之透析膜置於 200 mL 透析管中 (如圖 53), 加入 30% 甲醇溶

液使液面至 200 mL 刻線處（如圖 54），於室溫下進行透析 24 小時（過程中須經常上下提取透析膜加速內外液平衡），取出透析膜，將透析管中透析液以濾膜過濾後（PVDF, 0.45 μm ）後是為檢液，以高效能液相層析儀進行分析。

(A)



(B)

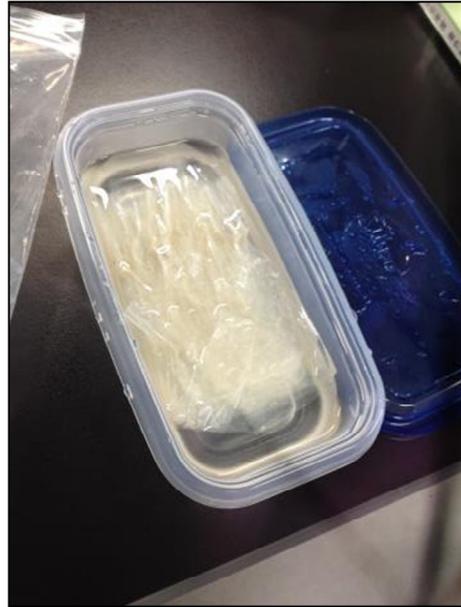


圖 49、透析膜 36/32 外觀，膨潤前(A)；膨潤後(B)。

(A)



(B)

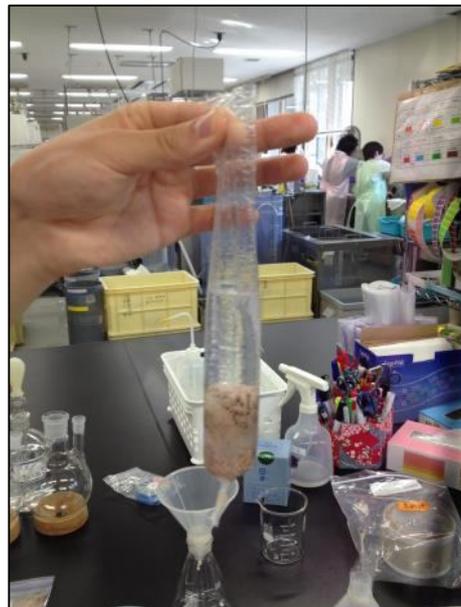


圖 50、將透析膜開口一端小心套入粉體漏斗中(A)，秤取樣品裝入透析膜中，並加入 30% 甲醇溶液(B)。

(A)



(B)



圖 51、按壓透析膜開口端小心擠壓透析膜將膜內氣體趕出(A)，並將透析膜打結(B)。

(A)



(B)



圖 52、透析膜打結(A)，並於打結處綁上塑膠繩(B)。



圖 53、將透析膜置於 200 mL 透析管中。



圖 54、加入 30% 甲醇溶液使液面至 200 mL 刻線處。

(2) 水蒸氣蒸餾：

取氯化鈉約 80 g (鹽析) 置於蒸餾瓶中 (如圖 55)，秤取 10 g 樣品 (如圖 56)，加入二次水約 100 mL、消泡劑 2 滴 (如圖 57) 及 15% 酒石酸溶液 (pH 2-3) 10-20 mL，以 pH 試紙確認溶液 pH 是否在 2-3 之範圍 (如圖 58)，以水蒸氣蒸餾裝置 (包含水蒸氣產生器、蒸餾瓶、加熱包、冷凝管及接收管) (如圖 59) 進行蒸餾，調整水蒸氣產生器功率，控制水蒸氣產生速率，使餾出液流速維持約 10 mL/min，收集餾出液約 500 mL 以濾膜過濾後 (PVDF, 0.45 μm) 後是為檢液，以高效能液相層析儀進行分析。



圖 55、取氯化鈉置於蒸餾瓶中。

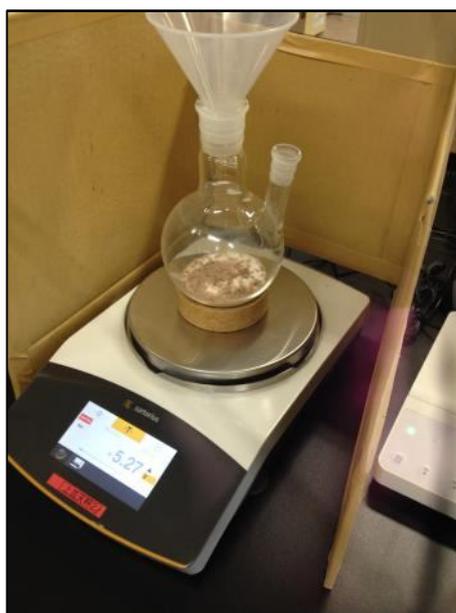


圖 56、秤取樣品置於蒸餾瓶中。

(A)



(B)

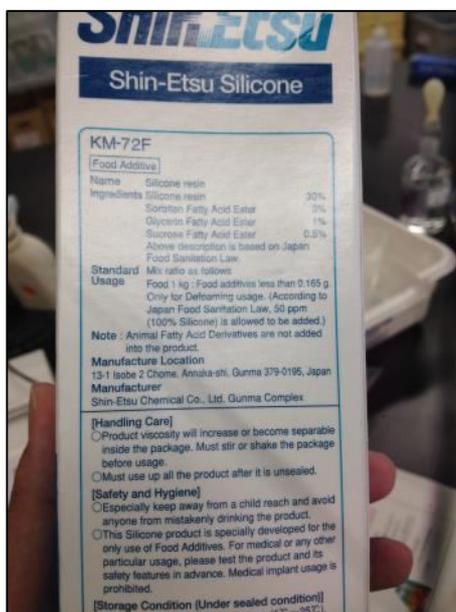


圖 57、消泡劑外觀，正面(A)；背面(B)。



圖 58、以 pH 試紙確認溶液 pH 是否在 2-3 之範圍。



(A)



(B)



(C)



(D)

圖 59、水蒸氣蒸餾裝置圖，蒸氣產生器(A)、蒸餾瓶與加熱包(B)、冷凝管(C)及接收管(D)。

2. 高效能液相層析條件：

(1) 層析條件一：

分析目標物： 苯甲酸 (Benzoic acid)、己二烯酸 (Sorbic acid)、
去水醋酸 (Dehydroacetic acid, DHA)、對羥苯甲酸
甲酯 (Methyl *p*-hydroxybenzoate, PHBA-me) 及對羥
苯甲酸乙酯 (Ethyl *p*-hydroxybenzoate, PHBA-et)。

HPLC 系統： Agilent Technologies 1260 Infinity

層析管柱： Cosmosil 5C₁₈-AR- II (5 μm, 4.6 mm i.d. × 150 mm)

移動相組成： MeOH: ACN: 5 mM Citric acid buffer (pH 4) = 1: 2: 7

移動相流速： 0.7 mL/min (分析時間: 23 min)

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 230, 254, 310 nm

樣品注射量： 20 μL

(2) 層析條件二

分析目標物： 對羥苯甲酸甲酯 (Methyl *p*-hydroxybenzoate,
PHBA-me)、對羥苯甲酸乙酯 (Ethyl
p-hydroxybenzoate, PHBA-et)、對羥苯甲酸正丙酯
(*n*-Propyl *p*-hydroxybenzoate, PHBA-*n*-pro)、對羥
苯甲酸異丙酯 (Isopropyl *p*-hydroxybenzoate,
PHBA-*i*-pro)、對羥苯甲酸正丁酯 (*n*-Butyl
p-hydroxybenzoate, PHBA-*n*-bu) 及對羥苯甲酸異丁
酯 (Isobutyl *p*-hydroxybenzoate, PHBA-*i*-bu)

HPLC 系統： Agilent Technologies 1260 Infinity

層析管柱： Cosmosil 5C₁₈-AR- II (5 μm, 4.6 mm i.d. × 150 mm)

移動相組成： MeOH: 5 mM Citric acid buffer (pH 4) = 6: 4

移動相流速： 0.7 mL/min (分析時間: 14 min)

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 254 nm

樣品注射量： 20 µL

使用透析法作為樣品前處理方式具有操作容易之優點，但因樣品需經過透析 24 小時，因此具有耗時之缺點，相反地，雖然水蒸氣蒸餾操作程序較複雜，所需架設裝置較多（如蒸氣產生器、蒸餾瓶、加熱包、冷凝管及接收管等），但因蒸餾時間短僅需約 1 小時即可完成樣品前處理，另外因為經過蒸氣蒸餾，收集得到之蒸餾液組成較使用透析法得到之透析液單純，經液相層析後得到之層析圖譜較為乾淨，雜質干擾較少，具有省時且雜質干擾較少的優點。

(二)、食品中甜味劑之檢驗

進行市售產品中甜味劑之檢驗項目包含環己基(代)磺醯胺酸、糖精、醋磺內酯鉀、阿斯巴甜、甘精、蔗糖素及甜菊糖苷（包含 Stevioside 及 Rebaudioside A）等。樣品前處理方式為透析法，所得到之透析液經由不同純化或衍生化步驟所得到之檢液再利用高效能液相層析搭配光二極體陣列式檢測器（HPLC-DAD）及折射率檢測器（HPLC-RI）進行檢測。

前處理部分包含 2 種不同的透析條件，第 1 種為使用含 10%氯化鈉之 0.01N 鹽酸溶液為透析內液，0.01N 鹽酸為透析外液，主要用於檢測環己基(代)磺醯胺酸、糖精、醋磺內酯鉀、阿斯巴甜、甘精、蔗糖素之樣品前處理方式，第 2 種為使用純水為為透析內液，含有少量疊氮化鈉（NaN₃）的水溶液為透析外液，主要用於檢測甜菊糖苷之前處理，以下分別針對不同甜味劑之前處理方法、檢液製備方法與層析條件加以說明：

1. 樣品前處理方法：

(1) 透析條件一：

秤取 20 g 樣品裝入已預先膨潤清洗之透析膜 36/32（UC

36-32-100, 透過分子量 14,000, 孔徑 50 Å, 平面寬度 44 mm, 直徑 28 mm, 膜厚 0.0203 mm, Viskase Companies, Inc.) 中 (如圖 60), 加入含 10% 氯化鈉之 0.01N 鹽酸溶液約 20 mL 於透析膜內 (如圖 61), 按壓透析膜開口端, 小心擠壓透析膜將膜內氣體趕出後將透析膜打結, 將裝有樣品之透析膜置於 200 mL 透析管中 (如圖 62), 加入 0.01N 鹽酸溶液使液面至 200 mL 刻線處 (如圖 63), 於透析管口封上石臘紙 (如圖 64), 手掌按壓管口上下倒置混和, 室溫下進行透析 24-48 小時¹⁶ (過程中須經常將透析管上下倒置混和以加速透析膜內外液平衡), 取出透析膜, 收集透析外液 (如圖 65), 以進行後續純化或衍生化等檢液製備流程。本透析條件適用於分析環己基(代)磺醯胺酸、糖精、醋磺內酯鉀、阿斯巴甜、甘精及蔗糖素之樣品前處理。



圖 60、秤取樣品裝入透析膜中。



圖 61、加入含 10% 氯化鈉之 0.01N 鹽酸溶液於透析膜內。

¹⁶ 若屬油脂含量高或烏賊醃製品等樣品應透析 48 小時。



圖 62、將透析膜置於透析管中。



圖 63、加入 0.01N 鹽酸溶液使液面至透析管刻線處。



圖 64、透析管口封上石臘紙。



圖 65、收集透析外液。

(2) 透析條件二：

秤取 20 g 樣品裝入已預先膨潤清洗之透析膜 36/32 (UC 36-32-100, 透過分子量 14,000, 孔徑 50 Å, 平面寬度 44 mm, 直徑 28 mm, 膜厚 0.0203 mm, Viskase Companies, Inc.) 中, 加入約 40 mL 二次水於透析膜內, 按壓透析膜開口端, 小心擠壓透析膜將膜內氣體趕出後將透析膜打結, 將裝有樣品之透析膜置於 200 mL 透析管中, 加入 20 mg/mL 疊氮化鈉 (NaN_3) 1 mL, 再加入二次水至 200 mL 刻線處, 於透析管口封上石臘紙, 手掌按壓管口上下倒置混和, 室溫下進行透析 48 小時 (過程中須經常將透析管上下倒置混和以加速透析膜內外液平衡), 取出透析膜, 收集透析外液, 以進行後續純化或衍生化等檢液製備流程。本透析條件適用於分析甜菊糖苷 (包含 Stevioside 及 Rebaudioside A) 之樣品前處理。

2. 檢液製備方法：

(1) 衍生化：

取 10 mL 透析外液於 100 mL 分液漏斗中, 分別加入 50% 硫酸 2 mL、正己烷 2.5 mL 及 5% 次氯酸鈉溶液 1 mL, 劇烈震盪 1 分鐘, 漏去水層, 保留正己烷層, 加入 5% 碳酸氫鈉溶液 25 mL, 震盪 1 分鐘, 漏去水層, 取正己烷層為檢液, 以高效能液相層析儀進行分析 (環己基(代)磺醯胺酸：層析條件一)。

(2) 直接過濾：

透析外液以濾膜過濾後 (PVDF, 0.45 μm) 後是為檢液, 以高效能液相層析儀進行分析 (糖精、醋磺內酯鉀：層析條件二；阿斯巴甜、甘精：層析條件三)。

(3) 固相萃取法一：

以固相萃取管 (Bond Elut ENV, 1 g) 進行純化，取 50 mL 透析外液通入固相萃取管中後，依序以二次水 10 mL、0.2 M 氫氧化鈉溶液 5 mL 及二次水 10 mL 洗淨，最後以甲醇 5 mL 沖提，收集沖提液，水浴加熱使溶劑去除溶劑，加入二次水 10 mL 復溶，以濾膜過濾後 (PVDF, 0.45 μm) 後是為檢液，以高效能液相層析儀進行分析 (蔗糖素：層析條件四)。

(4) 固相萃取法二：

固相萃取管 (Bond Elut Jr-C18, 500 mg) 先依序加入甲醇 5 mL 及二次水 5 mL 進行活化 (Conditioning)，取 50 mL 透析外液通入固相萃取管中後，依序以二次水 10 mL 及 20% 乙腈溶液洗淨，最後以 80% 乙腈溶液 5 mL 沖提，收集沖提液，以濾膜過濾後 (PVDF, 0.45 μm) 後是為檢液，以高效能液相層析儀進行分析 (甜菊糖苷：層析條件五)。

3. 高效能液相層析條件：

(1) 層析條件一：

分析目標物： 環己基(代)磺醯胺酸 (Cyclamate)

層析管柱： Cosmosil 5C₁₈-AR- II (5 μm , 4.6 mm i.d. \times 250 mm)

移動相組成： MeOH: H₂O = 8: 2

移動相流速： 1.0 mL/min

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 314 nm

樣品注射量： 10 μL

(2) 層析條件二：

分析目標物： 糖精 (Saccharin)、醋磺內酯鉀 (Acesulfame Potassium)

層析管柱： Inertsil NH₂(5 μm, 4.6 mm i.d. × 250 mm)

移動相組成： MeOH: 1% H₃PO₄ = 4: 6

移動相流速： 1.2 mL/min

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 230 nm

樣品注射量： 10 μL

(3) 層析條件三：

分析目標物： 阿斯巴甜 (Aspartame)、甘精 (Dulcin)

層析管柱： Mightysil RP18-GP(5 μm, 4.6 mm i.d. × 250 mm)

移動相組成： MeOH: 20 mM NaH₂PO₄ = 1: 3

移動相流速： 1.0 mL/min

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 210 nm

樣品注射量： 10 μL

(4) 層析條件四：

分析目標物： 蔗糖素 (Sucralose)

層析管柱： Inertsil ODS-3V(5 μm, 4.6 mm i.d. × 250 mm)

移動相組成： ACN: H₂O = 15: 85

移動相流速： 1.0 mL/min

管柱溫度： 40°C

檢測器： RI

樣品注射量： 10 μL

(5) 層析條件五：

分析目標物： 甜菊糖苷（包含 Stevioside 及 Rebaudioside A）

層析管柱： Inertsil NH₂ (5 μm , 4.6 mm i.d. × 250 mm)

移動相組成： ACN: H₂O = 8: 2

移動相流速： 0.8-1.2 mL/min

管柱溫度： 40-45°C

檢測器： UV 210 nm

樣品注射量： 20 μL

（三）、食品中著色劑之檢驗

進行市售產品中著色劑之檢驗項目包含食用赤色 2, 3, 40, 102, 104-106 号、食用黃色 4, 5 号、食用綠色 3 号及食用青色 1 号等。樣品經粉碎後以水溶液進行萃取，過濾得到之濾液再以毛線或聚醯胺粉末（Polyamide C-100, Nylon 6-6）淨化後得到之檢液再以薄層層析法（TLC）進行分析，以下分別針對樣品前處理方法、檢液製備方法與薄層層析條件加以說明：

1. 樣品前處理方法：

樣品先以均質機進行粉碎，取粉碎後樣品約 10 g，加入約樣品取樣量 1-5 倍量之二此水，60°C 水浴 30 分鐘後，可發現因著色劑溶出而使溶液著色，以濾紙、棉花或紗布¹⁷過濾除去固形物（如圖 66），若固形物部分仍有顏色，則加入氨水或乙醇萃取，合併著色濾液。

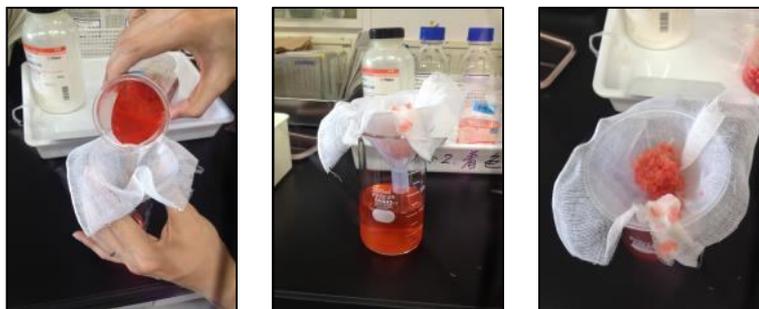


圖 66、以紗布過濾除去固形物。

¹⁷ 根據固形物顆粒大小選擇合適之過濾方式，顆粒由小到大依序選擇濾紙、棉花或紗布等。

2. 檢液製備方法：

得到之著色濾液先以 10%醋酸溶液（如圖 67）調整 pH 至約 3-4，並以 pH 試紙確認，再以脫脂毛線¹⁸或聚醯胺粉末（如圖 68）淨化。毛線與著色劑之吸附能力較強而聚醯胺與著色劑之吸附力較弱但相對較容易洗脫。



圖 67、以 10%醋酸溶液調整 pH 至約 3-4。

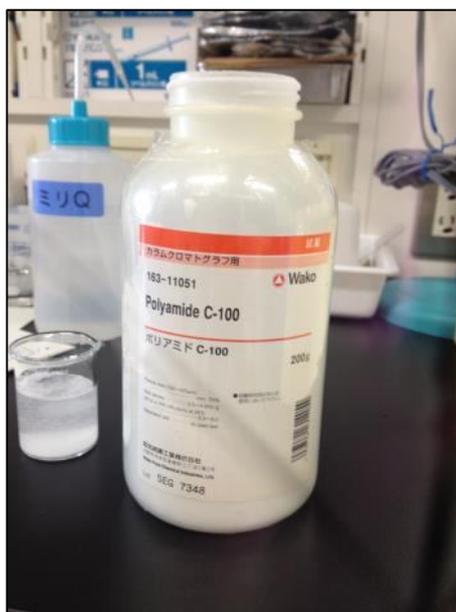


圖 68、聚醯胺粉末外包裝。

(1) 脫脂毛線吸附：

毛線先以二次水浸濕¹⁹，投入已調整 pH 至 3-4 之著色濾液中吸附著色劑，取出著色之毛線，先以自來水沖洗後再加入少量清潔劑以自來水沖洗（如圖 69），再加入 2.5%氨水與 96%乙醇以體積比 1:1 混合溶液 10 mL，60°C 水浴 1-2

¹⁸ 毛線以石油醚浸泡 1 小時，取出風乾，以二次水清洗，再以飽和尿素水溶液浸泡，加熱沸騰 1-2 小時後，取出以二次水清洗數次，風乾，並裁剪成小段（15 cm/段）

¹⁹ 毛線先以二次水浸溼後再投入濾液中，可避免毛線漂浮於液面上。

小時²⁰萃取消色劑(如圖 70)，得到之萃取液再以 80°C 水浴 2-3 小時將溶劑蒸乾，以二次水與 96%乙醇以體積比 1：1 混合溶液復溶是為檢液，以進行薄層層析。



圖 69、著色之毛線，以自來水沖洗。

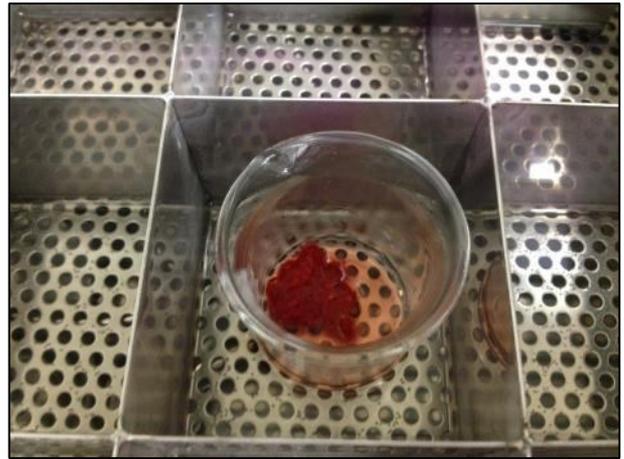


圖 70、60°C 水浴 1-2 小時以萃取消色劑。

(2) 聚醯胺粉末吸附：

聚醯胺粉末置於燒杯中(如圖 71)加入二次水浸濕，以藥勺攪拌(如圖 72)，靜置，待聚醯胺粉末沈降於燒杯底部(如圖 73)，緩慢傾斜燒杯倒去水層(如圖 74)，以除去懸浮於液面之聚醯胺粉末，再加入二次水重複上述步驟，直至液面無懸浮之聚醯胺粉末，倒去水層，加入已調整 pH 至 3-4 之著色濾液吸附著色劑，攪拌混合後靜置(如圖 75)，待吸附有著色劑之聚醯胺粉末沈降於燒杯底部，緩慢傾斜燒杯倒去大部份水層(如圖 76)後將聚醯胺粉末(如圖 77)移入塑膠管柱中(如圖 78)，並以二次水潤洗燒杯將殘留之聚醯胺粉末，洗入塑膠管柱，加

²⁰ 若 60°C 水浴 1-2 小時，毛線仍著色，則靜置 1 天。

入 2.5% 氨水與 96% 乙醇以體積比 1 : 1 混合溶液 10 mL 流洗，收集流出液（如圖 79），於 80°C 水浴 2-3 小時將溶劑蒸乾，以二次水與 96% 乙醇以體積比 1 : 1 混合溶液（如圖 80）復溶是為檢液（如圖 81），以進行薄層層析（如圖 82）。

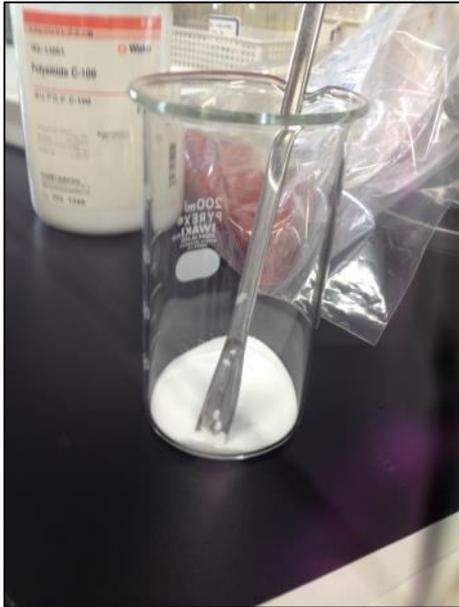


圖 71、取聚醯胺粉末置於燒杯中。圖 72、加入二次水浸濕，以藥勺攪拌。

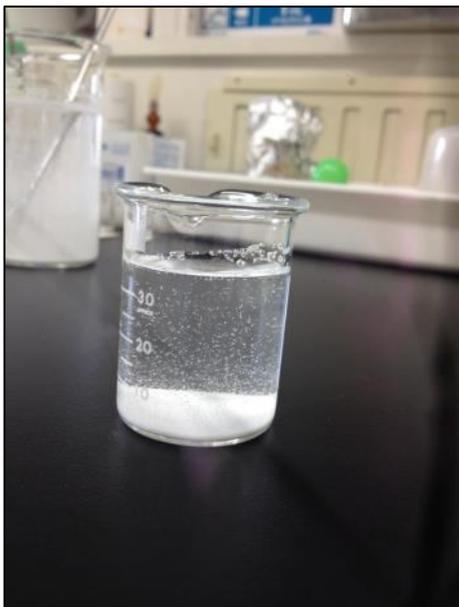


圖 73、待聚醯胺粉末沈降於燒杯底部。圖 74、緩慢傾斜燒杯倒去水層。



圖 75、加入著色濾液，攪拌混合後靜置。



圖 76、緩慢傾斜燒杯倒去大部份水層。

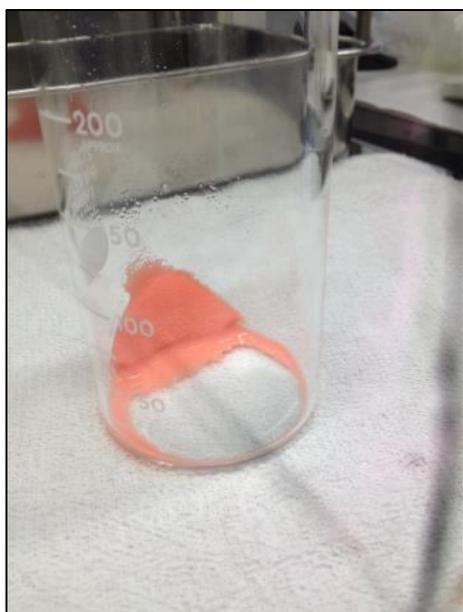


圖 77、待吸附有著色劑之聚醯胺胺粉末。



圖 78、將吸附有著色劑之聚醯胺胺粉末移入塑膠管柱中。



圖 79、加入 2.5% 氨水與 96% 乙醇以混合溶液流洗，收集流出液。

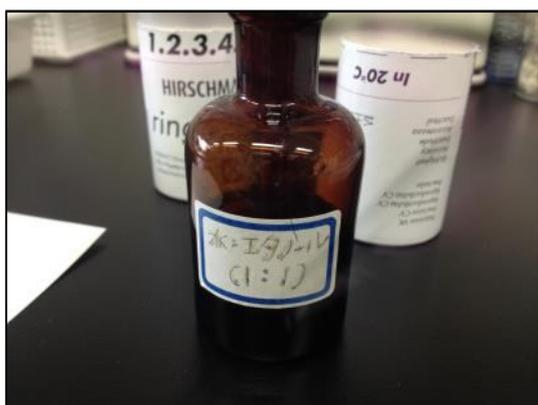


圖 80、二次水與 96% 乙醇混合溶液。 圖 81、復溶得到之檢液。



圖 82、進行薄層層析。

3. 薄層層析條件：

得到之檢液分別以下述兩種薄層層析條件進行展開，根據樣品所展開各色點之展開距離對照標準品所展開之距離，以鑑定樣品中所含著色劑之種類。

(1) 層析條件一：

薄層板： Merck RP-18 F₂₅₄S

展開溶劑： MeOH: ACN: 5% Na₂SO₄ = 3: 3: 10

標準品： St.1: 食用赤色 2 号 (R2)、食用赤色 102 号 (R102),
食用黃色 5 号 (Y5) 及食用赤色 40 号 (R40)

St.2: 食用赤色 3 号 (R3)、食用赤色 104 号 (R104),
食用赤色 105 号 (R105) 及食用赤色 106 号
(R106)

St.3: 食用黃色 4 号 (Y4)、食用綠色 3 号 (G3) 及
食用青色 1 号 (B1)

TLC 展開結果如圖 83。



圖 83、薄層層析條件一之展開結果。

(2) 層析條件二：

薄層板： Merck Kieselgel 60

展開溶劑： EA: MeOH: 28% NH₃ = 3.3: 1: 1

標準品： St.1: 食用赤色 2 号 (R2)、食用赤色 102 号 (R102)、
食用黃色 5 号 (Y5) 及食用赤色 40 号 (R40)

St.2: 食用赤色 3 号 (R3)、食用赤色 104 号 (R104)、
食用赤色 105 号 (R105) 及食用赤色 106 号
(R106)

St.3: 食用黃色 4 号 (Y4)、食用綠色 3 号 (G3) 及
食用青色 1 号 (B1)

TLC 展開結果如圖 84。



圖 84、薄層層析條件二之展開結果。

(四)、食品中抗氧化劑之檢驗

進行市售產品中防腐劑之檢驗項目主要包含丁基羥基甲氧苯 (BHA)、二丁基羥基甲苯 (BHT) 及第三基丁氫醌 (TBHQ) 等，在日本，BHA 與 BHT 是允許使用的食品添加物，TBHQ 則未被允許使用，但在許多國家 (包含台灣) TBHQ 是被允許用作食品添加物，因此 TBHQ 是個重要的檢驗目標。以下分別針對檢

液製備方法與層析條件加以說明：

1. 檢液製備方法：

取 5-10 g 經粉碎之樣品，加入乙腈、異丙醇與乙醇以體積比 2 : 1 : 1 混合溶液 50 mL，加入無水硫酸鈉 10-20 g，均質 5 分鐘（如圖 85），置於-20°C 冰箱冷凍 1 小時使油脂凝固，自冰箱中取出樣品，迅速以濾紙進行減壓抽氣過濾（如圖 86）以避免油脂溶解，濾液減壓濃縮至約 1-2 mL，以前述混合溶液定容至 5 mL，以濾膜過濾後（0.45 μm ）是為檢液，以高效能液相層析儀進行分析。

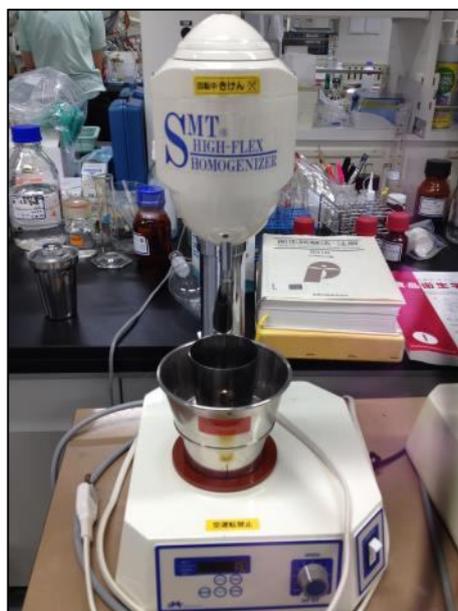


圖 85、均質機外觀。



圖 86、減壓抽氣過濾裝置外觀。

2. 高效能液相層析條件：

分析目標物： 丁基羥基甲氧苯 (Butylated hydroxyanisole, BHA)、
二丁基羥基甲苯 (Butylated hydroxytoluene, BHT)
及第三基丁氫醌 (tertiary-Butylhydroquinone, TBHQ)

層析管柱： ODS(5 μm , 4.6 mm i.d. \times 250 mm) + Guard column

移動相組成： Solvent A：ACN: MeOH = 1: 1

Solvent B：5%醋酸溶液

流洗梯度： Solvent A (40%)-(15 min)-Solvent A(90%, 15 min)-Solvent A(100%, 30 min)-Solvent A(40%, 20min)

移動相流速： 1.0 mL/min

管柱溫度： 40°C

檢測器： UV 280 nm (BHA, BHT, TBHQ)

螢光 *Ex.* 293 nm, *Em.* 332 nm (BHT, TBHQ)

(五)、食品中亞硝酸鹽之檢驗

進行市售產品中亞硝酸鹽含量之測定，藉由亞硝酸根與胺苯磺醯胺 (Sulfanilamide) 進行重氮化反應，再加入呈色劑萘乙二胺 (Naphthylethylenediamine) 反應產生粉紅色偶氮化合物，利用分光光度計測定吸光值，以下分別針對檢液製備方法與試驗流程加以說明：

1. 檢液製備方法：

秤取 10 g 樣品²¹置於 200 mL 燒杯中，加入 80°C 溫水 80 mL 與 0.5 M 氫氧化鈉溶液 12 mL，均質 1 分鐘，加入 0.5 M 氫氧化鈉溶液 20 mL 與醋酸鋅溶液 (1→2) 20 mL，攪拌，於 80°C 水浴 20 分鐘，過程中不時

²¹ 空白試驗則以二此水取代樣品。

攪拌，置於冰水中冷卻至室溫，移入附有栓蓋之 200 mL 刻度量筒中，加入二次水至 200 mL 刻線處，上下倒置混合後靜置，以濾紙過濾²²或離心，得到之濾液或上清液是為檢液。

2. 試驗流程：

取檢液 5 mL 置於 10 mL 附栓蓋玻璃試管中，加入二次水 3 mL 後加入胺苯磺醯胺溶液 1 mL，迅速加入萘乙二胺溶液 1 mL，蓋上栓蓋將試管上下倒置混合 1 分鐘，室溫靜置 20 分鐘後以分光光度計測定 540 nm 吸光值，以不同濃度之標準品進行試驗，可明顯觀察到檢液呈色深淺隨標準品濃度高低之變化，如圖 87 所示。

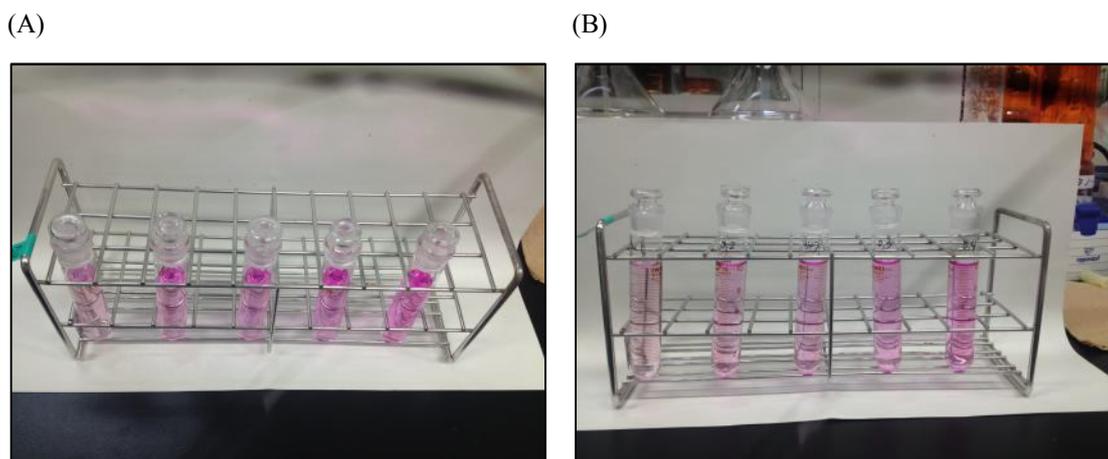


圖 87、食品中亞硝酸鹽之檢驗結果（俯視圖, A; 側視圖, B）。
正中央為樣品，其餘為標準品，由左至右濃度依序為 0.1 , 0.2, 0.3 及 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

（六）、食品中亞硫酸鹽之檢驗

進行市售產品中漂白劑之檢驗項目包含亞硫酸氫鉀 (KHSO_3)、亞硫酸氫鈉 (NaHSO_3)、亞硫酸鈉 (Na_2SO_3)、低亞硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)、二氧化硫 (SO_2)、偏亞硫酸氫鉀 ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$)、偏亞硫酸氫鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 等，檢驗方式分為定性試驗與定量試驗。定性試驗是利用碘酸鉀-澱粉試紙，進行呈色反應；定量試驗則是

²² 若以濾紙過濾，則最初 20 mL 濾液捨棄，避免濾紙上之雜質造成污染。

利用鹼滴定法。以下分別針對定性試驗與定量試驗加以說明：

1. 定性試驗：

取 10g 樣品置於 100mL 錐形瓶中²³，加入二次水 10-20 mL 混合，靜置 3-5 分鐘。加入磷酸 2-5 mL，立即以懸掛有碘酸鉀-澱粉試紙的軟木塞塞住錐形瓶開口（如圖 88），並使試紙下端在液面上方約 1 公分處²⁴。室溫下，觀察試紙顏色變化。若樣品中含有二氧化硫或亞硫酸鹽類則在試紙乾燥與濕潤部分交界處之兩側會慢慢呈現藍色²⁵；但應注意當二氧化硫過量時，則產生的藍色會慢慢消失²⁶。本次試驗以竹筴、紅酒及乾燥杏為檢體，另搭配對照標準照與空白對照進行亞硫酸鹽定性試驗，結果如圖 89，由圖 89 (A)可發現空白對照組並沒有產生顏色變化，圖 89 (B)標準對照組則可發現試紙在乾、濕交界處產生藍色，而圖 89(C)-(E)可發現三種檢體在試紙乾、濕交界處均產生藍色，顯示該檢體中含有亞硫酸鹽類。



圖 88、以懸掛有碘酸鉀-澱粉試紙的軟木塞塞住錐形瓶開口。

²³ 液體樣品直接取用；固體樣品則切細後取用。

²⁴ 試紙下端約 1cm，預先以二次水浸濕。

²⁵ $\text{KIO}_3 + 5\text{SO}_2 + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{I}_2 + \text{K}_2\text{SO}_4 + 4\text{H}_2\text{SO}_4$ 反應產生的碘會使澱粉試紙呈現藍色。

²⁶ $\text{I}_2 + \text{SO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HI} + \text{H}_2\text{SO}_4$ 過量的二氧化硫會與產生的碘反應而使藍色消失。

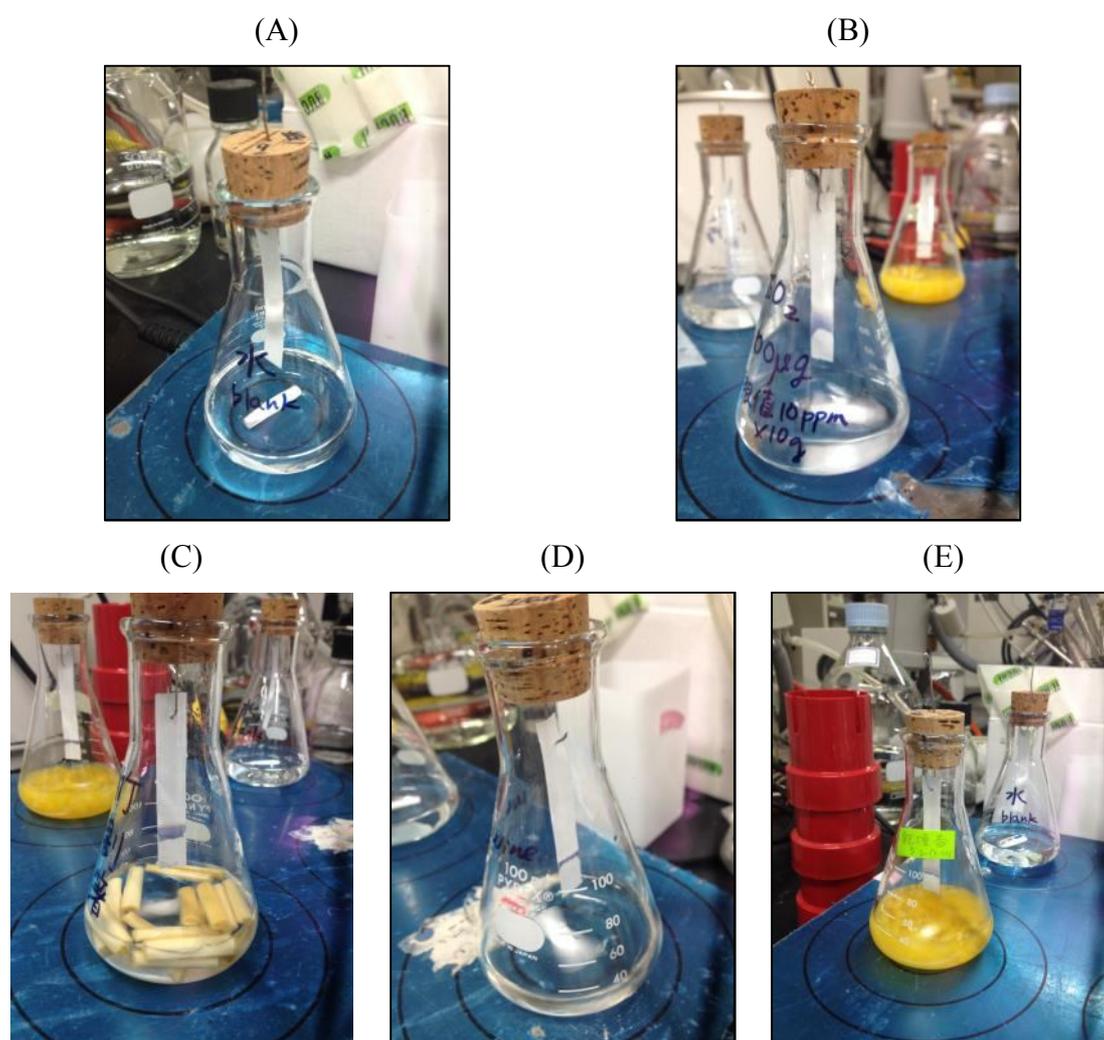


圖 89、食品中亞硫酸鹽檢驗-定性試驗結果，空白對照(A)、標準對照(B)、竹筴(C)、紅酒(C)及乾燥杏(D)。

2. 鹼滴定法：

在通氣用燒瓶中加入樣品、乙醇 2 mL、矽油 2 滴及磷酸溶液(1→4) 10 mL；在捕集用燒瓶中加入 0.3%過氧化氫 10 mL、甲基紅-亞甲基藍乙醇溶液指示劑 (Methyl red-Ethylene blue ethanol solution) 3 滴，並加入 1/10 濃度的滴定液 1-2 滴，使溶液顏色由紫色變為綠色。架設通氣蒸餾裝置，在通氣蒸餾裝置中通入氮氣 (0.5-0.6 L/分)，並加熱通氣用燒瓶。通氣用燒瓶中所產生之二氧化硫氣體被氮氣導入至捕集用燒瓶中，

並與過氧化氫反應，產生硫酸²⁷，使溶液由綠色變為紫色口(如圖 90)。利用 0.01N 氫氧化鈉溶液滴定補集用燒瓶中產生之硫酸含量，當溶液顏色由紫色變灰色，再變為綠色，即達滴定終點。依照下列公式(式 5)計算樣品中二氧化硫含量。

$$\text{二氧化硫含量} \left(\frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) = \frac{(a-b) \times f \times 0.32 \times 1}{W} \quad (\text{式 5})$$

0.01 N 氫氧化鈉溶液 1 mL = SO₂ 0.32 mg。

a：樣品溶液滴定量 (mL)。

b：空白溶液滴定量 (mL)。

W：樣品取樣量 (g)。

f：0.01N 氫氧化鈉溶液力價。

(A)



(B)



圖 90、產生之二氧化硫氣體被導入至補集用燒瓶中，與過氧化氫反應，產生硫酸，使溶液由綠色(A)變為紫色(B)。

²⁷ SO₂ + H₂O₂ → H₂SO₄

四、專題演講

此次研習過程中，很幸運地在 10 月 29 日與 10 月 30 日下午分別參加了兩場在京都健康安全中心所舉辦的專題演講，分別是由アジレント・テクノロジー株式会社（Agilent Technologies）介紹「GC, GC/MS 基本故障排除」與ジーエルサイエンス株式会社（GL Sciences）「固相萃取技術基礎介紹」，雖然演講內容與課程講義都是以日文方式呈現，但因為有植松洋子博士熱心地全程協助翻譯及解釋，因此對於課程的內容也都大致能理解，以下針對專題演講內容概要介紹。

第一場的演講內容主要介紹氣相層析（Gas chromatography, GC）常見之故障情形、可能原因及排除方式，如：

1. 無波峰訊號（No peak）：
 - (1) 火焰離子化偵測器（Flame ionization detector, FID）沒有開啟
 - (2) 載流氣體（Carrier gas）流量設定錯誤
 - (3) 注射針口阻塞等原因
2. 鬼峰（Ghost peak）：
 - (1) 氣體純度不夠
 - (2) 操作耗材污染
 - (3) 前次分析樣品殘留等原因
3. 尖狀雜訊（Spike peak）：
 - (1) 系統中的微小粒子進入檢測器而被碳化產生電子元件雜訊干擾
 - (2) 週期性的出現雜訊可能是因為附近有其他會造成影響的儀器
4. 波峰分裂（Peak split）：
 - (1) 樣品溶於兩種以上之混合溶劑
 - (2) 樣品注射方式錯誤
 - (3) 注射口樣品發生變性如裂解等
 - (4) 烘箱初始溫度與溶劑的相容性不佳等原因

5. 基線飄移：

- (1) 管柱或檢測器平衡時間不足
- (2) 載流氣體 (Carrier gas) 流量不穩定
- (3) 檢測器的溫度或電壓不穩定
- (4) 系統發生污染等原因

5. 波峰拖尾 (Peak tailing)：

- (1) 高活性化合物 (-OH, -COOH, -NH₂) 吸附於管柱表面
- (2) 管線流路問題，如死體積 (Dead volume)、管線安裝不適切、管柱髒
- (3) 注射口溫度太低
- (4) 管柱或化合物與溶劑的極性相容性不佳等原因

6. 波峰趨前 (Peak fronting)：所造成。

- (1) 管柱過載 (Overloading)
- (2) 管柱安裝不正確
- (3) 樣品注射方式錯誤
- (4) 波峰重疊
- (5) 樣品溶於兩種以上之混合溶劑等原因

7. 滯留時間飄移 (Retention time shifting)

- (1) 注射口洩漏，如墊片 (Septum) 鬆弛等
- (2) 樣品溶劑改變
- (3) 樣品濃度改變差異大
- (4) 氣體流速設定改變
- (5) 管柱溫度改變
- (6) 管柱劣化，如管柱內壁塗覆的液態固定相層減少或發生劣化
- (7) 系統發生污染等原因

針對不同分析需求如何選擇適當的氣化管(Liner)或樣品瓶瓶蓋(Vial caps)等也有詳細的介紹。

此外關於管柱狀態的調整(Column conditioning)，植松博士在翻譯時特別強調其重要性，由於新管柱或長期沒有使用的管柱在使用前都應該進行調整

(Conditioning) 主要目的為排除管柱中的水氣，避免影響分離效果，參考的調整方式如下：

1. 管柱溫度由室溫升到 80°C，升溫速度為 5°C/分鐘。
2. 管柱溫度於 80°C 維持 60 分鐘，主要是將管柱中的水氣烤乾。
3. 管柱溫度由 80°C 升到 200°C，升溫速度為 5°C/分鐘。
4. 管柱溫度於 200°C 維持 60 分鐘，主要是將管柱內壁塗覆的液態固定相層中的水氣烤乾。
5. 最後將管柱溫度由 200°C 升到略低於管柱最高使用溫度，升溫速度為 5°C/分鐘。
6. 管柱於設定溫度下維持 60 分鐘。

最後針對進行樣品分析時的基質效應所造成之訊號增強、抑制效果或滯留時間偏移等現象進行介紹。

第二場的演講主要介紹使用固相萃取技術進行樣品的前處理，由於使用固態填充物來進行樣品的萃取或純化而謂之「固相萃取技術」，固相萃取管主要分成三個部分，分別為填充容器、固相填充物及上下兩片隔板(Frits)組成。

填充物主要的基底(Base)可分為矽膠(Silica gel)、聚合物(Polymer)或石墨(Graphite)等不同材質，另在根據不同分析對象的需求而有不同官能基的修飾而分為非極性(如 InertSep C18、C8、C2、CH 或 PH 等)、極性(如 InertSep SI、2OH、CN 或 NH₂ 等)、陰離子交換(InertSep SAX、PSA 或 NH₂)、陽離子交換(InertSep SCX、PRS 或 CBA)等固相種類。

固相萃取技術的基本原理為藉由目標物與流洗液、固相表面的交互作用差異而控制目標物的保持或洗出。固相萃取技術的操作應用有兩種模式，第一種為「保持-溶出回收模式」，此模式作為常見，首先將樣品溶液通入固相萃取管中，藉由固相表面與目標物的作用而將之保持（**Retain**）於管柱中，之後藉由改變流洗條件將目標物自固相表面溶出（**Elute**）並收集以達到萃取之效果，應用實例如日本「テトラサイクリン試験法」（四環黴素類抗生素檢驗法）等；另一種為「穿透模式」，將樣品溶液通入固相萃取管中，目標物直接流出，而其他雜質則被吸附於固相表面，達到淨化之效果，應用實例如日本「残留農薬一斉試験法」（残留農薬同步分析檢驗法）等。

在食品分析的樣品基質中，常因目標物含量低或雜質含量高等造成分析的困難，透過固相萃取技術的應用，可提高目標物濃度而達到濃縮之效果或將雜質排除而達到淨化之效果，以利後續檢驗分析工作之進行。

參、心得

本次有幸奉派赴日本東京進行為期 12 天的食品添加物及非標的物檢測技術研習，此次研習內容豐富、充實且多元，舉凡日本國內針對食品添加物相關之法規、標準介紹及包括食品中食品添加物、食品添加物品質等檢驗方法之介紹等，在這 12 天的研習過程中，承蒙東京都健康安全中心食品化學部食品添加物研究科全體同仁的協助與指導，才能在短短的幾天中，不僅學習到許多檢驗技術，更認識了許多好朋友，以下分享一些參與研習後之心得：

一、日本食品添加物相關檢驗方法參考書籍：

藉由此次的交流除瞭解到如何透過網際網路查找日本食品添加物相關法規、標準及食品添加物品質檢驗方法，另外也搜集到許多日本食品添加物相關檢驗方法的參考書籍，包括日本食品添加物協會所出版的《英文第 8 版食品添加物公定書》、廣川書店所出版的《第 8 版食品添加物公定書解說書》與《第十六改正日本藥局方解說書》、日本食品衛生協會所出版的《第 2 版食品中の食品添加物分析法》、日本藥學會所編撰之《衛生試驗法·註解》及飼料分析基準研究會所編撰之《飼料分析法·解說》等寶貴的資料來源。

二、食品添加物品質檢驗：

食品添加物品質檢驗部分為本次研習的主軸，也花費了許多時間在講解與實作上，首先要感謝菊地小姐、高梨小姐與富岡小姐三位扮演實驗助教的角色，從旁協助準備檢體、試藥、器材與儀器等，另外也要感謝鈴木小姐與羽石小姐協助解許多有關試驗原理的疑問，最後要感謝的是荻元博士因為我不諳日語僅能以英語溝通，荻元博士居中扮演語言溝通的重要橋樑，從實驗原理、操作步驟及注意事項等都詳細地加以解說並實際示範等，讓我能很快地瞭解每個實驗步驟，也因為透過荻元博士我能夠和其他不諳英語的同仁交換意見與聊天，不僅交流了實驗技術上的經驗也交換了許多雙方文化的差異，其中最令我印像深刻的就是表示數

字 1 到 10 的手勢動作，起因為荻元博士在描述離心時間時以日本慣用的手勢表示數字「4」，但當下沒有反應過來，一直不知道所表達的意思，後來理解後才知道是表示數字「4」，當下菊地小姐等人也對於台灣慣用的數字表示手勢很好奇，雙方就互相以慣用手勢表示數字 1 到 10，才發現雙方的數字表示方法很不一樣，對於這樣的差異大家都感到很有趣。

三、食品中食品添加物之檢驗：

食品中食品添加物的檢驗方法分別由不同小組成員帶領我進行相關實驗，在防腐劑方面要感謝青木先生講解原理與流程及安井小姐、日向小姐、佐々木先生從旁協助實驗與操作示範；甜味劑部分要感謝太田先生與田原先生講解原理與流程及山本小姐、與湯淺小姐的協助實驗與操作示範；著色劑方面則要感謝藤原先生講解原理與流程及大須賀小姐、小川小姐及京小小小姐的協助實驗與操作示範，抗氧化劑方面則要感謝宮川先生與坂牧小姐的原理講解；亞硝酸鹽則要感謝新藤先生與森川小姐的操作示範；亞硫酸則要感謝山鳩小姐的操作示範。

四、待開發食品中食品添加物之檢驗方法參考：

最後要感謝的植松博士，因為有她的全力協助才能順利促成本次的檢測技術研習，在出發前植松博士即透過電子郵件瞭解我們對於檢驗技術的需求與感興趣的檢驗項目，藉此安排研習課程，到了實驗室的第一天，植松博士就帶著我向所有實驗室成員一一介紹，除了介紹自己也藉此認識大家，在往後的幾天中，植松博士陸續向我介紹了日本食品添加物相關管理法規與標準的現況及透過網際網路查找相關資料之方法，也介紹許多食品添加物的檢驗方法，另外，針對我國目前待開發之食品中食品添加物之檢驗方法清單，植松博士也提供了一些日本相關檢驗的參考資料，如食塩中フェロシアン化物（亞鐵氰化鈉、亞鐵氰化鉀及亞鐵氰化鈣）、小麦粉及小麦粉調製品中アゾジカルボンアミド（偶氮甲醯胺）與飼料中メナジオン重亜硫酸ナトリウム（Menadione Sodium Bisulfite, MSB）等參

考文獻，至於尚待開發檢驗方法清單上之其他品項，深入分析該類項目多屬無固定組成之聚合物或混合物，建立相關檢驗方法實屬不易，日本目前也尚無相關檢驗方法可供參考。在研習的最後一天，很榮幸地能與東京都健康安全研究中心食品添加物實驗室的成員們合照（如圖），開心地為這次研習畫下完美的句點，

四、工作態度與實驗室管理：

在這趟研究最令我印象深刻的就是植松博士與其他工作夥伴的認真態度與敬業精神，此外也觀察到在實驗室的文件管理非常嚴謹，該填的表單、紀錄等都有詳細紀錄，當發現有問題時要追溯相關記錄都能輕易掌握，在實驗室環境整潔的維護與維持每個人都非常遵守，做完實驗後都會順手清理實驗桌面回復到實驗前的狀態，針對實驗廢液也都有嚴謹的管理。另外，在日本實驗室中發現一個與台灣比較不一樣的作法，在台灣的食藥署實驗室中，用畢的器材會放置於空水桶中等待清洗，而在日本的東京都健康安全研究中心實驗室中，用畢的器材則會放置於裝有清水的水桶中等待清洗，兩者的差別在於盛裝用畢器材的水桶中是否裝有清水，先浸泡於清水中的用畢器材之後或許比較容易清洗，這或許是回國之後我們可以學習的方式。



圖 91、與日本「東京都健康安全中心」食品化學部食品添加物研究科品質檢驗小組荻元博士合影。

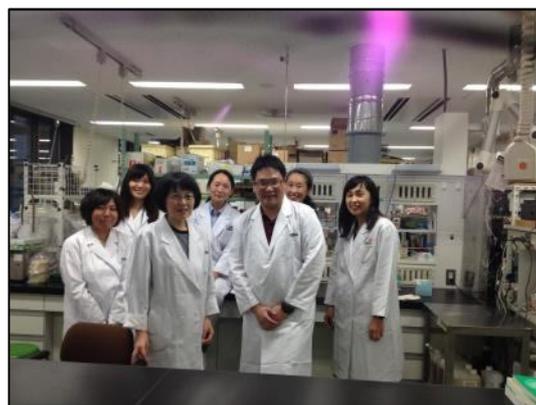


圖 92、與日本「東京都健康安全中心」食品化學部食品添加物研究科品質檢驗小組成員合影，前排由左至右依序為植松博士與筆者本人，後排由左至右依序分別為高梨小姐、菊地小姐、鈴木小姐、羽石小姐與富岡小姐。

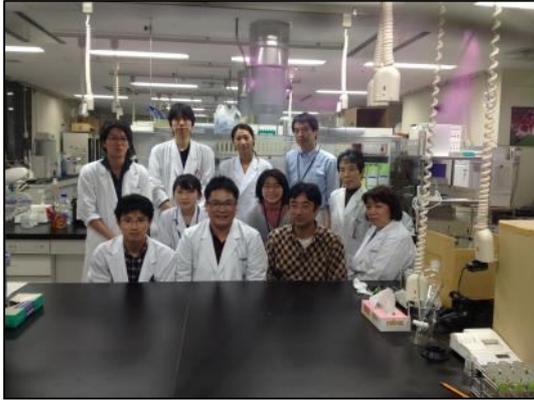


圖 93、與日本「東京都健康安全中心」食品化學部食品添加物研究成員合影。第一排由左至右依序分別為青木先生、田原先生及筆者本人；第二排由左至右依序分別為佐々木先生、山本小姐與大須賀小姐；第三排由左至右分別為藤原先生與宮川先生。



圖 94、與日本「東京都健康安全中心」食品化學部食品添加物研究成員合影。前排分別為杉木先生（左一）、森川小姐（左三）、坂牧小姐（左三）、湯淺小姐（左三）、日向小姐（左三）與筆者本人。



圖 95、與日本「東京都健康安全中心」食品化學部食品添加物研究科長植松洋子博士合影。

肆、建議

本次赴日進行「食品添加物及非標的物檢測技術研習」，除學習食品添加物品質及食品中食品添加物等檢驗技術外，亦蒐集日本相關法規、標準及檢驗方法之檢索方式及建立未來溝通管道等，以下為參與研習後提出之建議：

一、持續鼓勵同仁積極參與赴日研習：

鄰近台灣的日本，在食品添加物品質檢驗方法的內容嚴謹且完整，針對現有的品質檢驗方法仍持續進行修正或更新，並與國際接軌，此外，東京都健康安全研究中心執行相關食品添加物品質檢驗的經驗豐富，反觀國內，由於當前食品添加物品質檢驗的強制執行才剛起步，對於許多檢驗方法的操作與適用性等都尚待驗證中，為擴增國內執行食品添加物之品質檢驗量能並加速檢驗技術之精進，日本是個非常好的學習對象，憑藉著文化與漢字等共通性並結合日本的專業技術經驗，必能有效增進國內檢驗技術的質與量。

二、持續維持台日雙方之良好溝通管道：

此次在東京都健康安全中心的研習，真是獲益良多，學習到許多食品添加物品質檢驗技術與許多食品中食品添加物之檢驗技術，此外也了解許多植松博士與研究室其他同仁在過去的研究題目、方向與內容，這些寶貴的經驗與知識也提供未來在從事相關研究工作或突發事件的因應等奠定了良好的根基。而藉由本次的參訪也提供雙方一個資訊交流的平台，讓彼此都能更瞭解雙方國內所提供的重大訊息或發生的重要事件等，作為雙方在未來執行工作的借鏡。

三、增加台日雙方互訪機會：

未來期盼台日雙方在食品添加物相關檢驗領域能有更多互相參訪或學習的機會，想必對於雙方在未來的工作必能有所提升，且藉此開闊國際視野並增進與國際接軌的機會。

四、持續尋求非標的物檢測技術之交流機會：

非標的物之檢測技術近來日益受到關注，主要著重於例行性檢驗項目以外之非法添加物或殘留物，由於此類型之檢驗必須結合多種尖端分析技術並搭配背景資料庫之建立，極具挑戰性與困難度，然本次參加研習之東京都健康安全研究中心並無針對非標的物檢測之相關技術可供分享，未來針對非標的物之檢測也將持續尋求其他國際交流之機會，藉由吸收他國之研究經驗，以期有效提升相關非標的物檢測之技術水平。

附件：出國分享報告簡報資料

103年赴日進行「食品添加物及 非標的物檢測技術研習」

出國分享報告

報告日期：103年12月24日

報告人：方俊仁

出國地點：日本東京都健康安全研究中心

報告大綱

- 日本食品添加物管理法規介紹
- 日本食品添加物品質檢驗方法介紹
 - 砷試驗法
 - 鉛試驗法
- 日本食品中食品添加物檢驗方法介紹
 - 防腐劑
 - 甜味劑

日本食品添加物 管理法規介紹

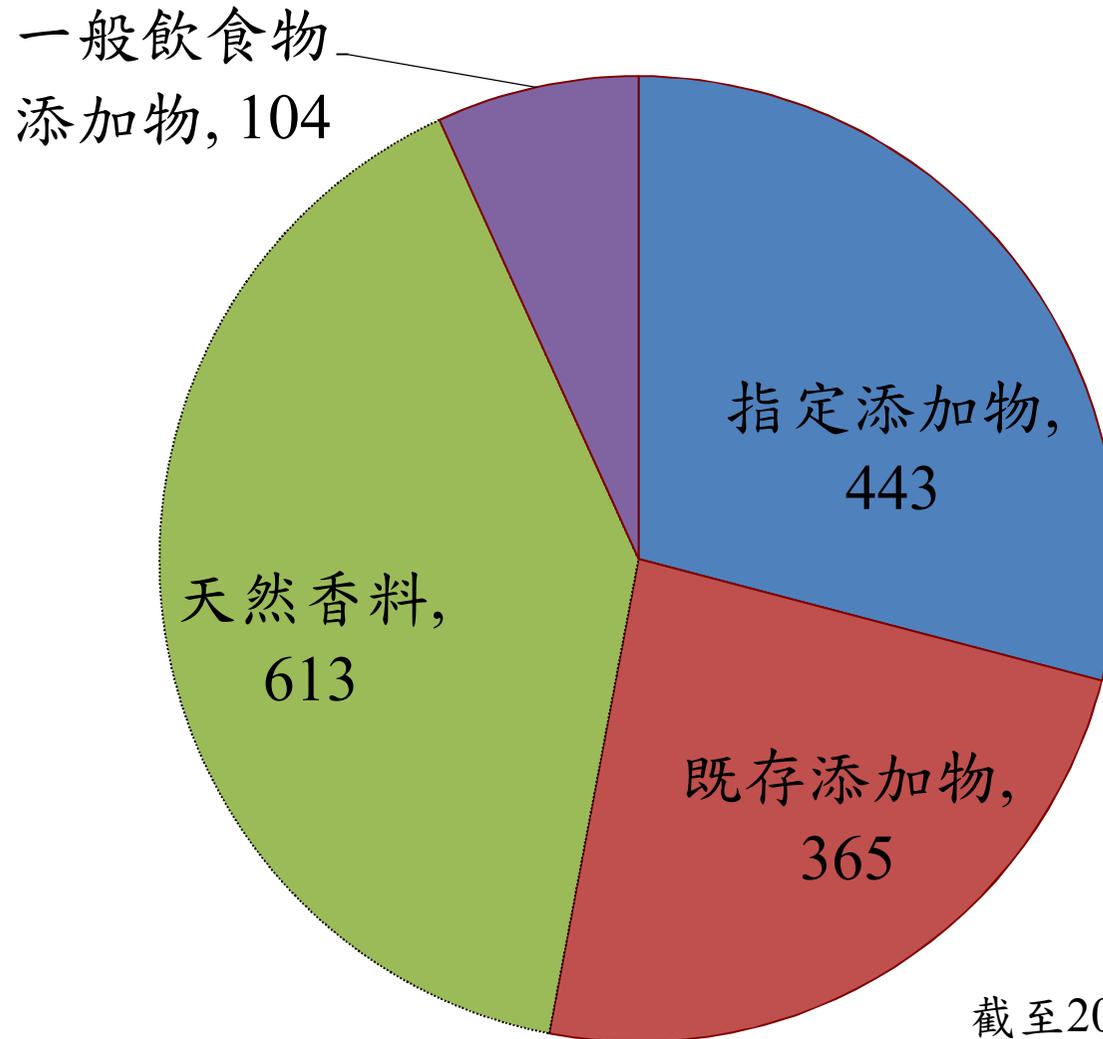
管理法規

- 食品衛生法 (Food Sanitation Act, FSA)
 - 正面表列制度 (指定添加物、既存添加物)
 - 1947年：化學合成食品添加物
 - 1995年：納入天然來源食品添加物

食品添加物分類

- 指定添加物 (Designated additives)
- 既存添加物 (Existing food additives)
- 天然香料 (Natural flavoring agents)
- 一般飲食物添加物 (Ordinary foods used as food additives)

食品添加物品項數目



截至2014年1月30日

添加物使用基準

添加物使用基準リスト

- 適用之目標食品範囲
- 最大使用量或残留量

部分未訂有使用基準

- 維生素、胺基酸等

各添加物の使用基準及び保存基準（平成26年6月18日改正まで記載）
 （厚生省告示第370号 食品、添加物等の規格基準より抜粋）

（注）記載のない場合は対象食品の規制はない。

品名	分類	使用基準		
		使用できる食品等*	使用量等の最大限	使用制限
亜塩素酸水	殺菌料	精米 豆類 野菜(きのこ類を除く) 果実 海藻類 鮮魚介類(鯨肉を含む) 食肉 食肉製品 鯨肉製品 上記食品の保存品	0.40g/kg浸漬液又は噴霧液	最終食品の完成前に分解し、又は除去すること 保存品とは塩蔵、乾燥その他の方法により保存したもの

第8版食品添加物公定書

- 食品衛生法第21條

亜塩素酸ナトリウム
Sodium Chlorite

- 食品添加物

NaClO₂

分子量 90.44

Sodium chlorite [7758-19-2]

含 量 本品は、亜塩素酸ナトリウム(NaClO₂) 70.0%以上を含む。

性 状 本品は、白色の粉末で、においがなく又はわずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品は、ナトリウム塩の反応及び亜塩素酸塩の反応を呈する。

(2) 本品の水溶液(1→100) 2mlにリン酸緩衝液(pH8) 100mlを加えた液は、波長258~262nmに極大吸収部がある。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして10μg/g以下

本品4.0gを量り、水20mlを加えて溶かし、硝酸1ml及び塩酸20mlを加え、水浴上で蒸発乾固した後、残留物に水を加えて50mlとし、試料液とする。試料液25mlを量り、アンモニア水(1→6)を加えて中和した後、酢酸(1→20) 2ml及び水を加えて50mlとし、検液とする。比較液は、鉛標準液2.0mlを量り、酢酸(1→20) 2ml及び水を加えて50mlとする。

(2) ヒ素 As₂O₃として1.0μg/g以下

(1)と同様に調製した試料液25mlを量り、検液とする。装置Bを用いる。

- 1. 通則

- 2. 一般試験法

- 3. 試薬・試液等

- 4. 成分規格・保存規格

- 5. 製造基準等

食品中食品添加物檢驗方法

- 官方方法 (Official methods)
- 準官方方法 (Quasi-official methods)
- 其他國家政府、國際組織允許使用之檢驗方法
- 發表於科學期刊之檢驗方法
- 內部方法 (In-house methods)

日本食品添加物品質

檢驗方法介紹

砷試驗法



稱取指定量檢品於坩鍋



加入硝酸鎂乙醇溶液點火



緩緩加熱至 $450-550^{\circ}\text{C}$
使液體蒸乾，冷卻後
移入灰化爐中灰化



黑色碳化物殘留
灰化不完全



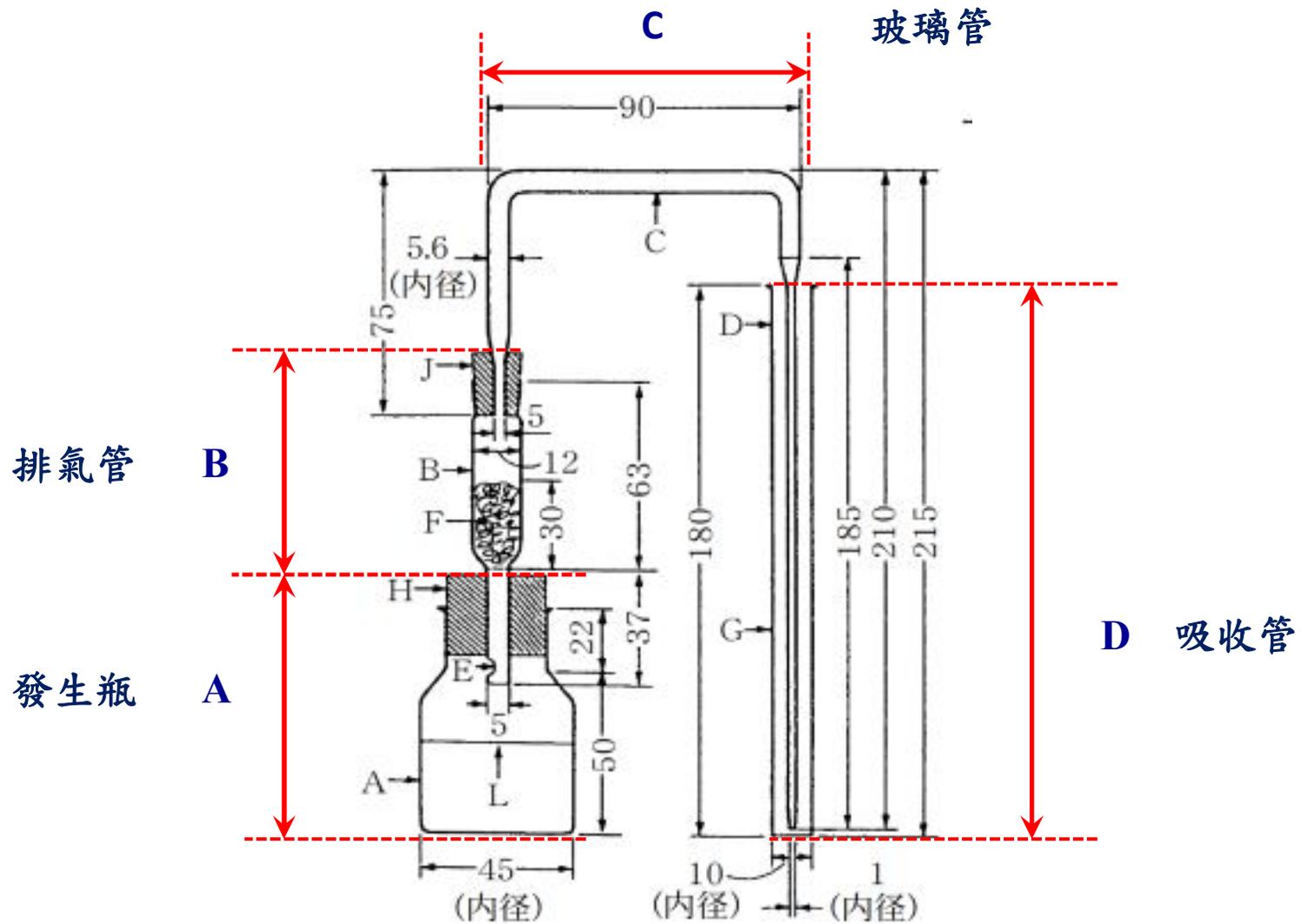
無碳化物殘留
灰化完全



加入鹽酸
使用玻棒
來回刮動
坩鍋表面
溶解殘留物



沸水浴加熱
使殘留物
完全溶解
作為檢液



A：發生瓶；B：排氣管；C：玻璃管；D：吸收管；
 E：小孔；F：玻璃纖維（約0.2g）；G：5 mL標線
 H、J：橡膠塞；L：40 mL標線



排氣管B中
裝入玻璃纖維棉F
高度約30 mm



以醋酸鉛試液/水
混合溶液均勻將
玻璃纖維F潤濕



水流抽氣幫浦
裝置圖



以水流抽氣幫浦將
玻璃纖維F與
排氣管B管壁上
多餘之混合溶液
由排氣管B管底部
開口抽去

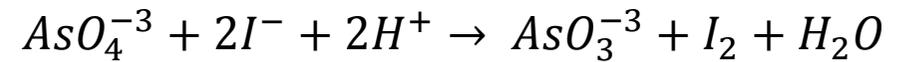


檢液加入
溴酚藍試液
呈橘黃色



滴加氨水
使檢液由
橘黃色變為
紫色

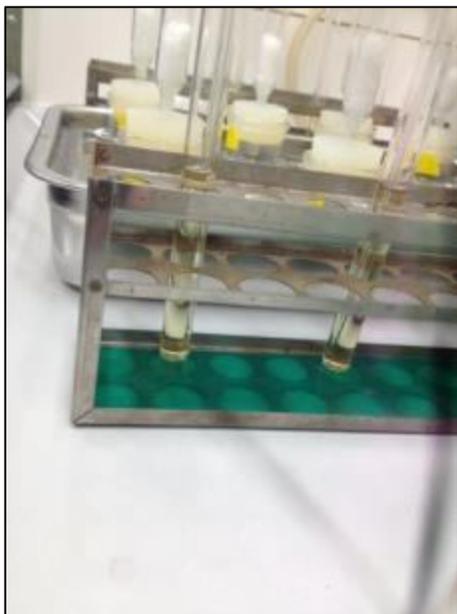
+ 5 mL $\text{HCl}_{(\text{aq})}$, 5 mL $\text{KI}_{(\text{aq})}$, 靜置2分鐘



+ 5 mL $\text{SnCl}_{2(\text{aq})}$, 靜置10分鐘



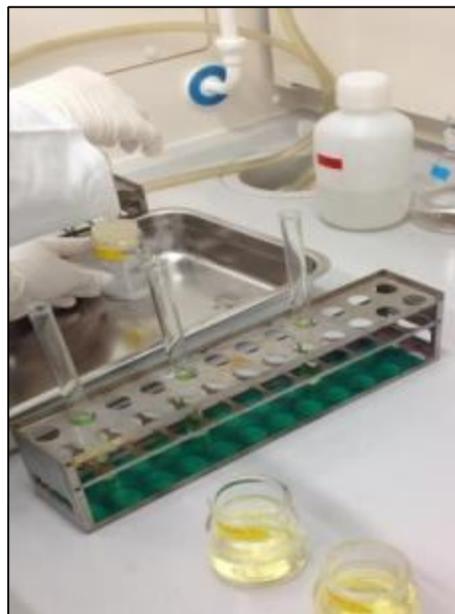
移至發生瓶A , ddH₂O潤洗 , 定容至40 mL



準備裝有5 mL
砷吸收液之
吸收管D



發生瓶A中
迅速加入
2 g無砷鋅粒

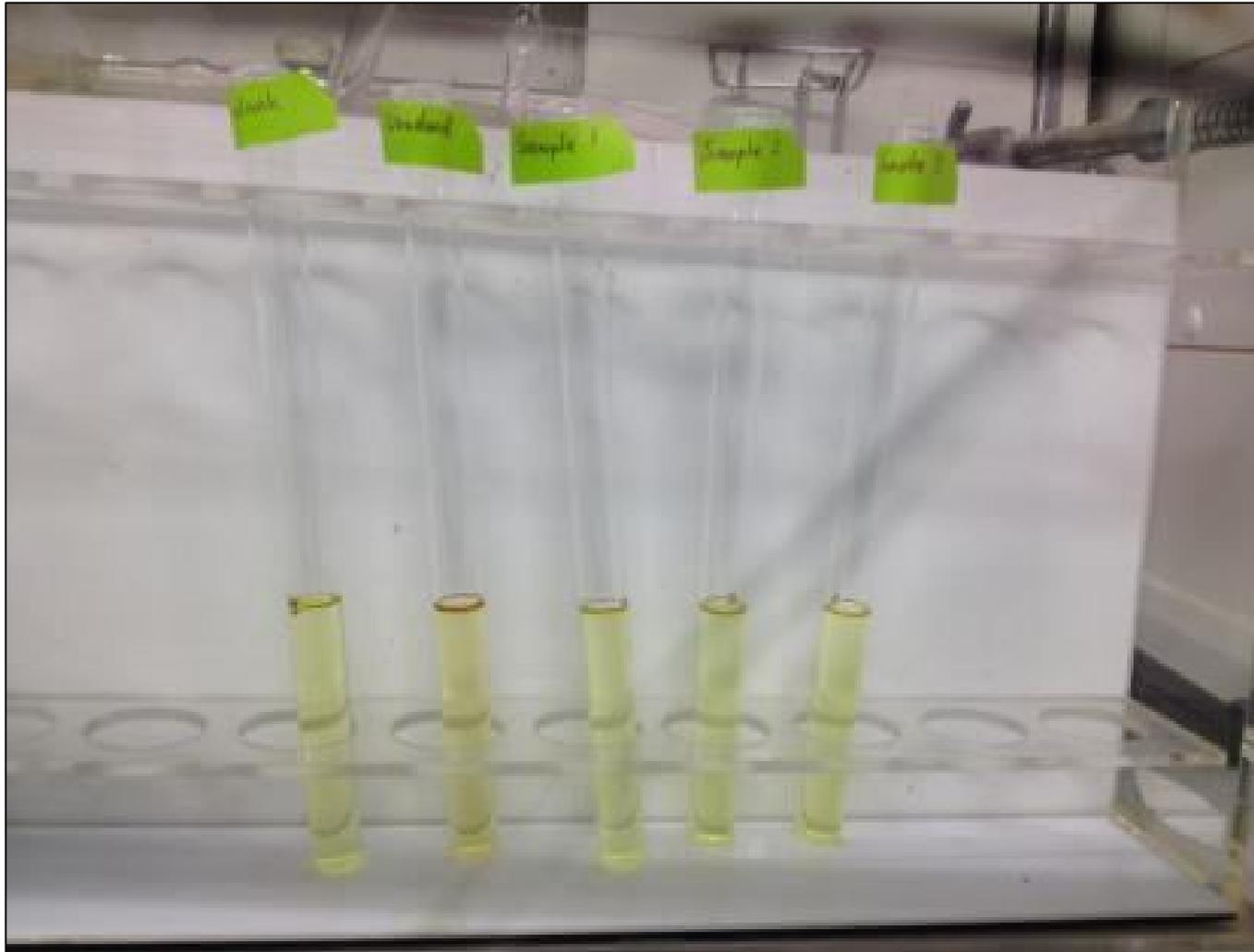


迅速連接
發生瓶A、
排氣管B及
玻璃管C



將玻璃管C尖端
插入吸收管D底部



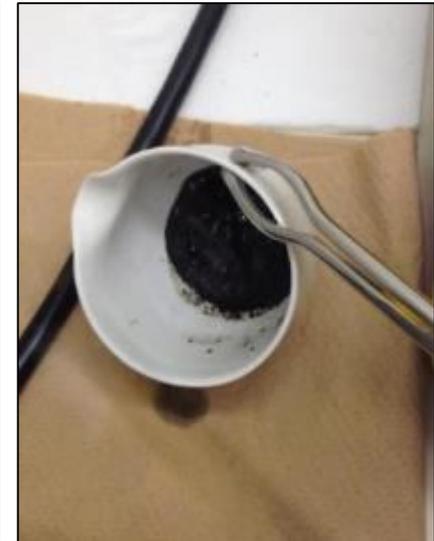
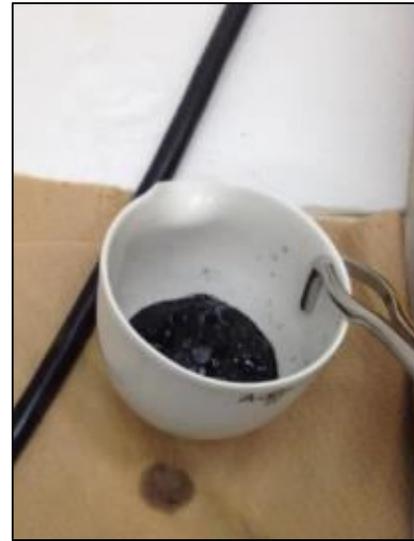


Blank **Standard** **Sample #1 ~ #3**

鉛試驗法 (方法一)



稱取檢品，以稀硫酸溶液潤濕檢品



以坩鍋夾夾起坩鍋，輕敲底部側緣

- 避免表面結塊而膨脹造成噴濺
- 翻攪坩鍋內之檢品



加熱板緩慢加熱至完全碳化(黑色)且白煙不再產生(SO_3)，移入灰化爐中灰化



黑色碳化物殘留
灰化不完全



加入稀硫酸溶液
及濃硝酸

加熱板加熱至
白煙不再產生

移入灰化爐中灰化



加入稀鹽酸溶液

沸水浴加熱至乾

加入少量稀硝酸溶液

沸水浴加熱溶解



冷卻

濾膜過濾

稀硝酸溶液
定容至10 mL

作為檢液

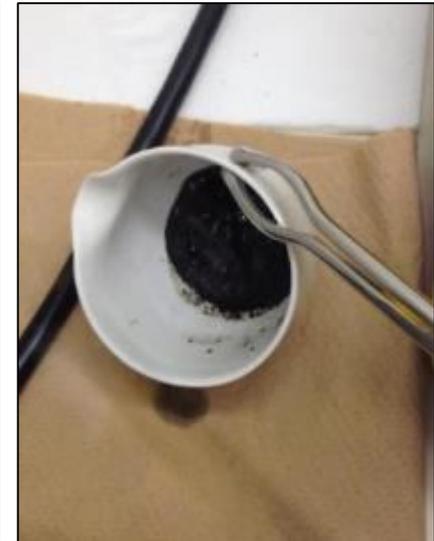
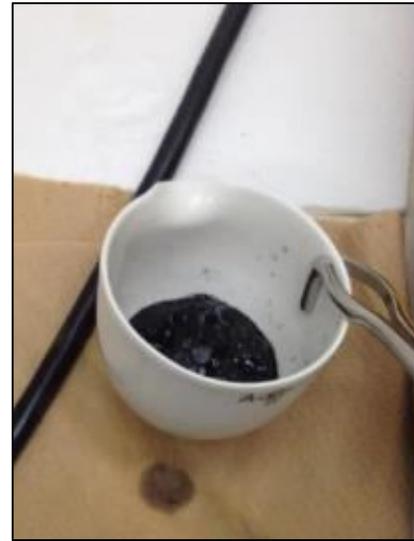


原子吸收光譜儀分析 (HITACHI Z-2000)

鉛試驗法 (方法二)



稱取檢品，以稀硫酸溶液潤濕檢品



以坩鍋夾夾起坩鍋，輕敲底部側緣

- 避免表面結塊而膨脹造成噴濺
- 翻攪坩鍋內之檢品



加熱板緩慢加熱至完全碳化(黑色)且白煙不再產生(SO_3)，移入灰化爐中灰化



黑色碳化物殘留
灰化不完全



加入稀硫酸溶液
及濃硝酸

加熱板加熱至
白煙不再產生

移入灰化爐中灰化



加入稀鹽酸溶液

沸水浴加熱至乾



加入稀鹽酸溶液

加熱板加熱溶解



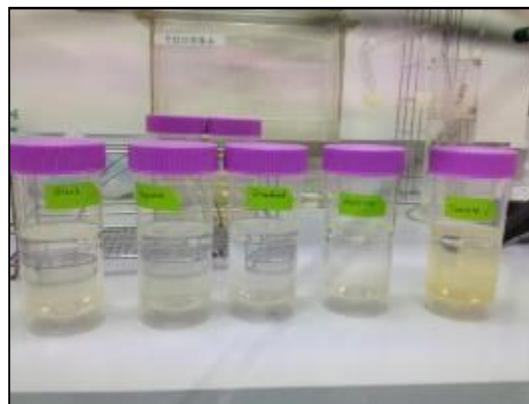
加入
檸檬酸氫二銨
緩衝溶液



加入
百里酚藍試液
(Thymol blue)



pH 試紙測試
溶液pH 8-9



加入吡咯烷二硫代
氨基甲酸銨溶液

靜置5分鐘

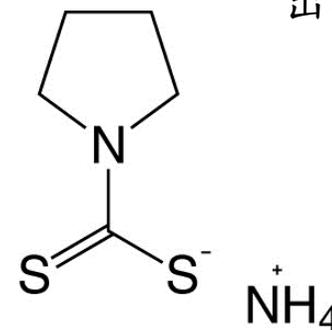
加入乙酸丁酯

出現分層

(螯合金屬，溶劑萃取)

吡咯烷二硫代氨基甲酸銨

Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate, $C_5H_{12}N_2S_2$





震盪器震盪萃取



離心



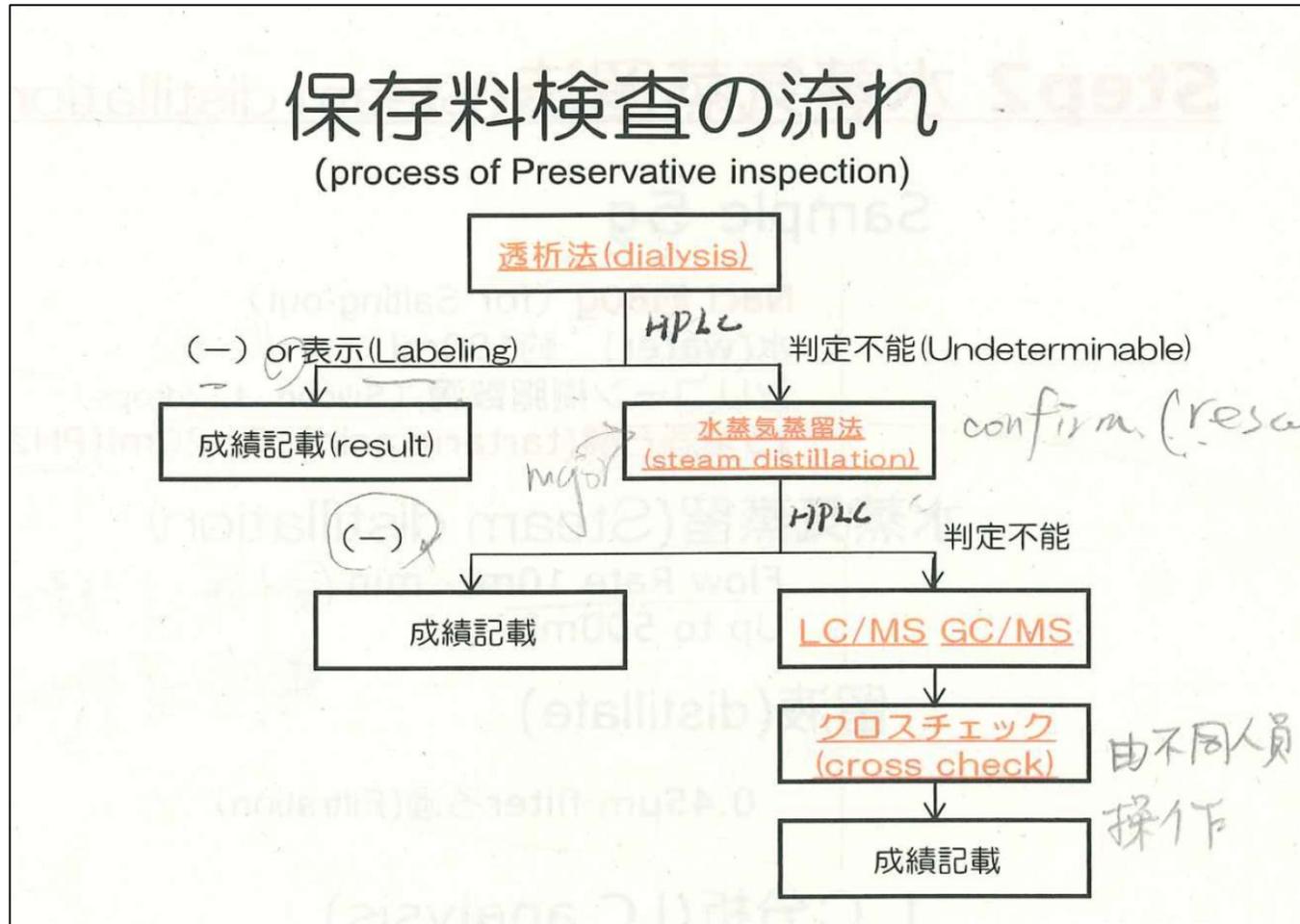
取上層乙酸丁酯層
作為檢液



原子吸收
光譜儀分析

日本食品中食品添加 物檢驗方法介紹

食品中防腐劑之檢驗流程



防腐劑-前處理 (透析法)



透析膜外觀：
膨潤前



透析膜外觀：
膨潤後



將透析膜開口一端
小心套入粉體漏斗中



秤取樣品
裝入透析膜中

加入30%甲醇溶液



按壓透析膜開口端

小心擠壓透析膜

將膜內氣體趕出



透析膜打結



打結後外觀



打結處綁上塑膠繩



將透析膜置於
200 mL透析管中



加入30%甲醇溶液至200 mL

室溫下透析24小時

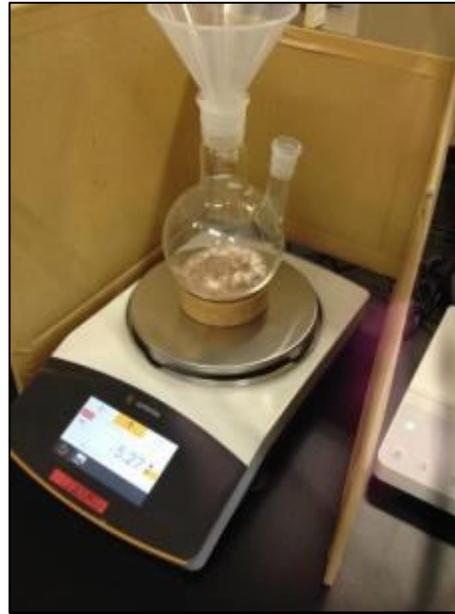
透析液濾膜過濾是為檢液

高效能液相層析儀分析

防腐劑-前處理 (水蒸氣蒸餾法)



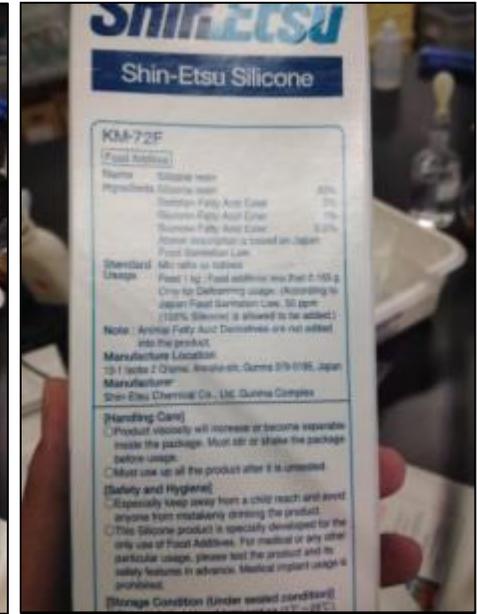
取氯化鈉
置於蒸餾瓶



秤取樣品
置於蒸餾瓶



加入消泡劑



消泡劑成分標示



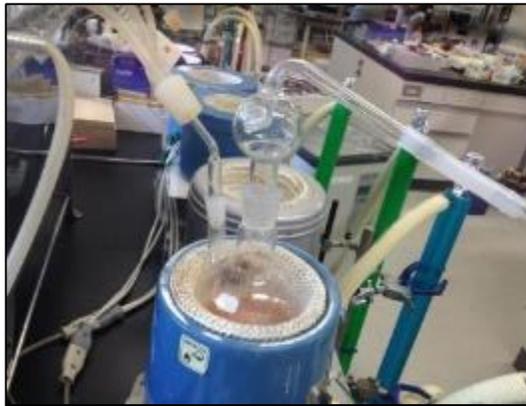
pH試紙確認 pH 2-3



蒸氣產生器



冷凝管



蒸餾瓶與加熱包

水蒸氣蒸餾裝置蒸餾

收集餾出液

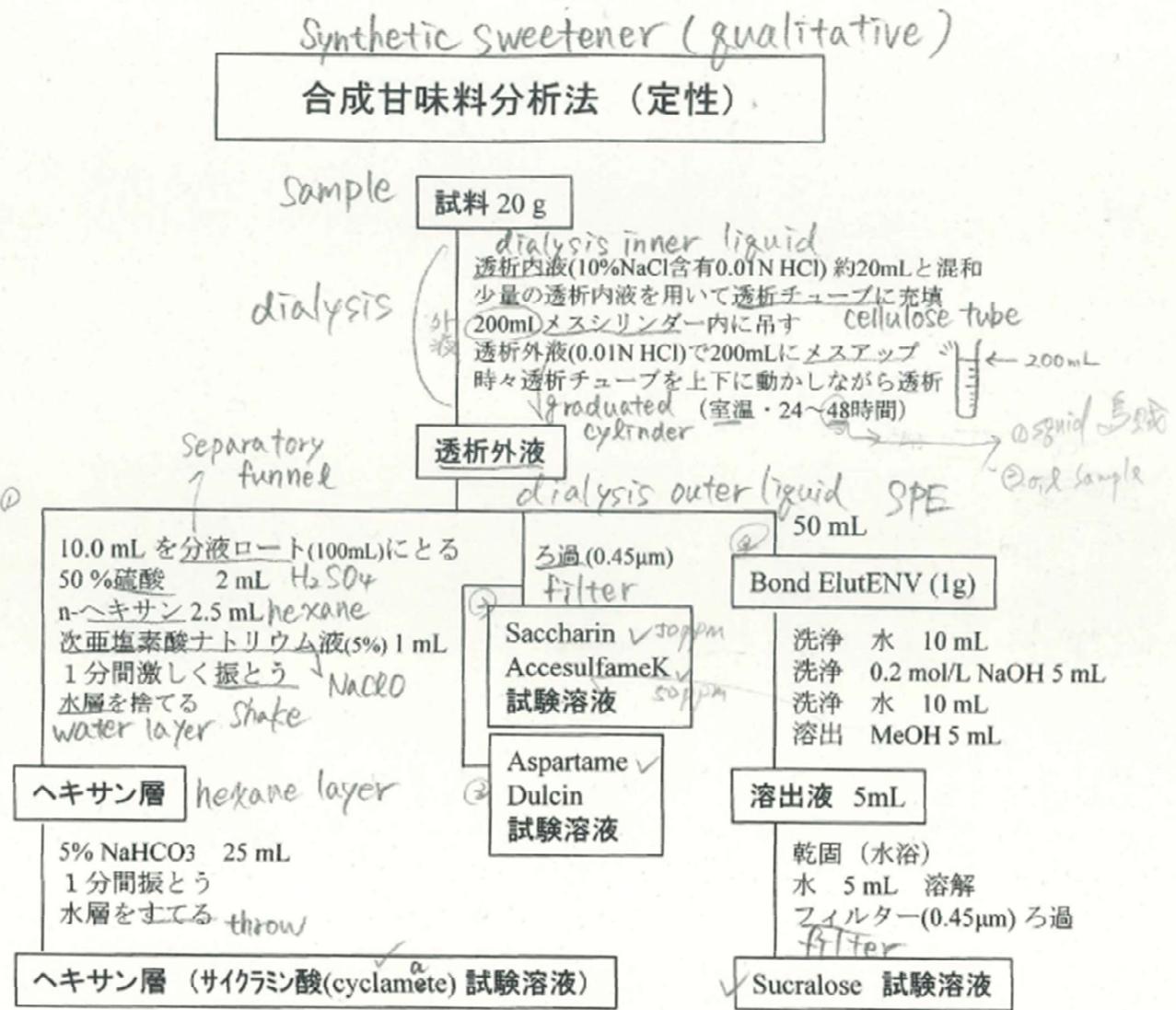
濾膜過濾，是為檢液

高效能液相層析儀分析



接收管

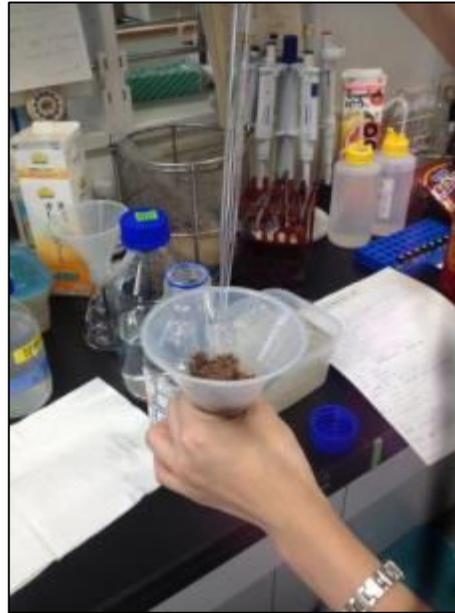
食品中甜味劑之檢驗流程



甜味劑-前處理



秤取樣品裝入
透析膜中



加入含10%氯化鈉
之0.01N鹽酸溶液
於透析膜內



透析膜置於
透析管中



加入0.01N鹽酸溶液
至200 mL



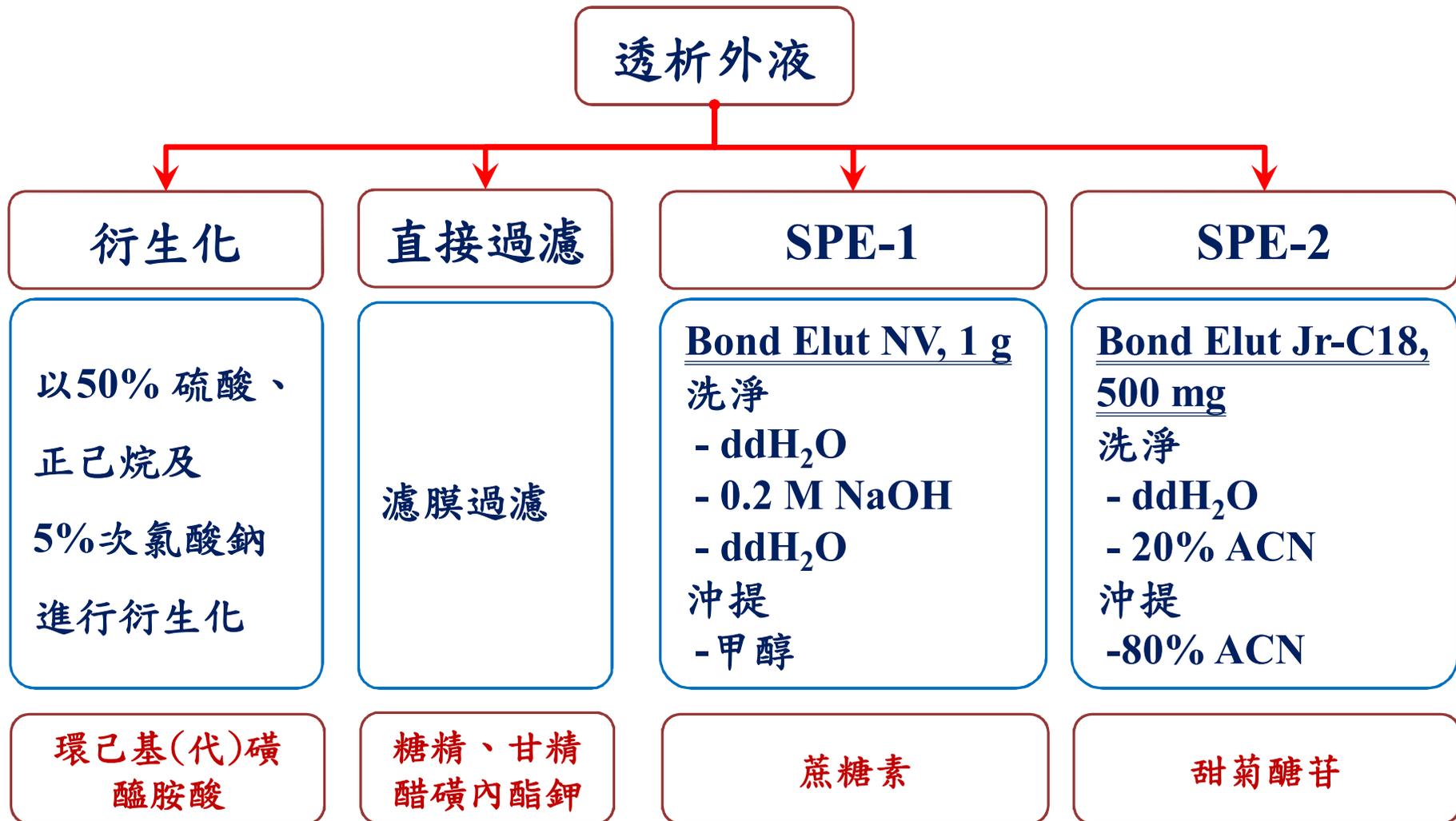
透析管口
封上石臘紙

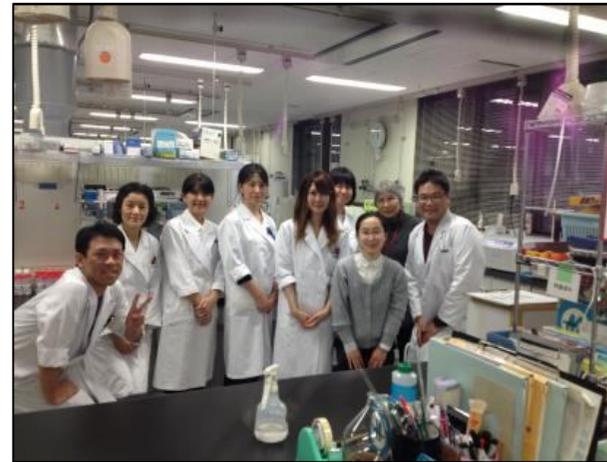
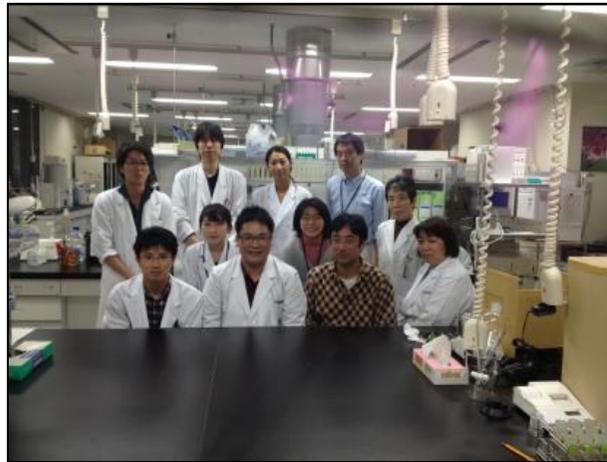
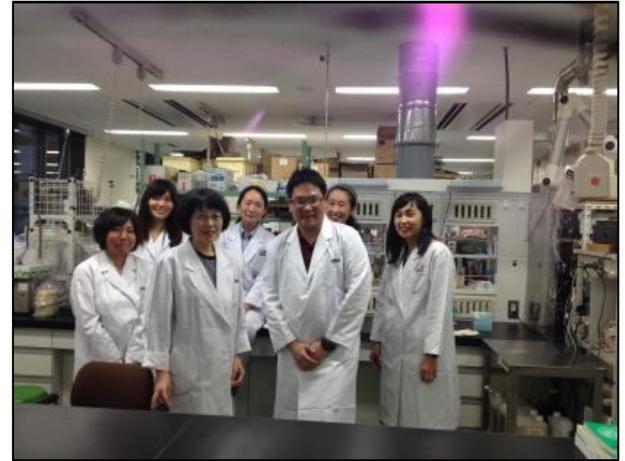
上下倒置混和



收集透析外液

甜味劑-檢液製備





*Thanks for
your attention*