

105年度食品檢驗業務推廣研討會(二)

藥求安全 食在安心

食品中抗氧化劑之檢驗方法

Fast

Detection of

Antioxidants

第一段

報告人: 方銘志

大綱

- 抗氧化劑介紹
 - 簡介
 - 種類
 - 作用
 - 使用範圍
 - 萃取
- 抗氧化劑分析方法



藥求安全 食在安心



Antioxidants

抗氧化劑原理(其他類型)

藥求安全 食在安心

- 自由基終止型(BHA, BHT)
- 還原劑(二氧化硫, Vt C)
- 氧清除劑(氧吸附劑)
- 螯合劑型(檸檬酸, EDTA)

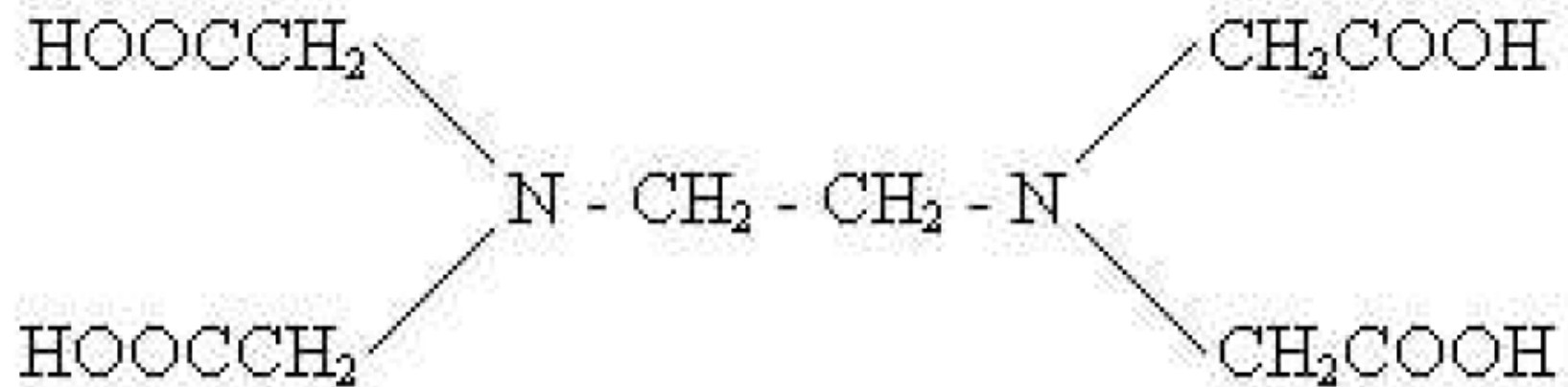


亞硫酸鹽

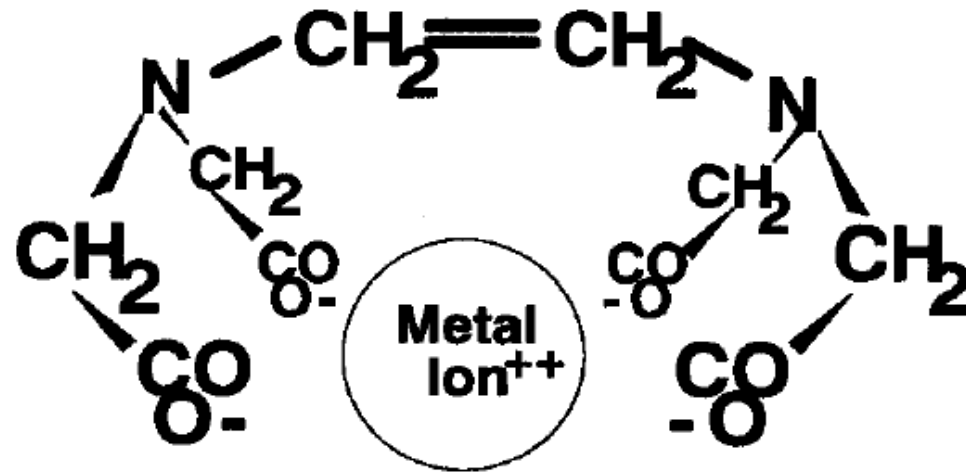
- 1.本品可使用於麥芽飲料(不含酒精)；用量以SO₂殘留量計為0.03 g/kg以下。
 - 2.本品可使用於果醬、果凍、果皮凍及水果派餡；用量以SO₂殘留量計為0.1 g/kg以下。
 - 3.本品可使用於表面裝飾用途(薄煎餅之糖漿、奶昔及冰淇淋等產品之調味糖漿)；用量以SO₂殘留量計為0.04 g/kg以下。
 - 4.本品可使用於含葡萄糖糖漿之糕餅；用量以SO₂殘留量計為0.05 g/kg以下。
- 限於食品製造或加工必須時使用。

乙烯二胺四醋酸二鈉或乙烯二胺四醋酸 二鈉鈣EDTA Na₂ or EDTA CaNa₂

- 本品可使用於為防止油脂氧化而引起變味之食品；用量為0.10g/kg以下（以食品重量計）。
- EDTA Na₂於最終食品完成前必須與鈣離子結合成EDTA CaNa₂。



EDTA



Ethylenediaminetetraacetic acid
(EDTA) chelates a metal ion

抗氧化劑多重分析

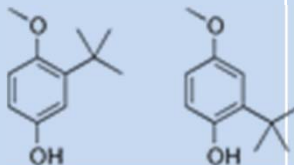
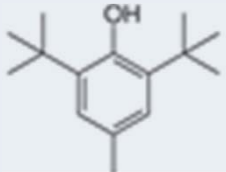
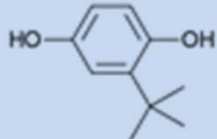
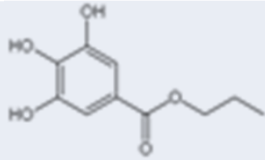
藥求安全 食在安心

- 11項標的物：
- 4項台灣列為合法氧化劑
- 6項台灣不得使用，但歐盟或美國列為合法抗氧化劑
- 1項台灣，美國，歐盟，日本均為非法抗氧化劑



“酚”類抗氧化劑（合法）

藥求安全 食在安心

NO	中文名	英文名	結構	使用
1	丁基羥基甲氧苯	BHA		合法
2	二丁基羥基甲苯	BHT		合法
3	第三丁基氫醌	TBHQ		合法
4	沒食子酸丙酯	PG		合法

沒食子(gallate)

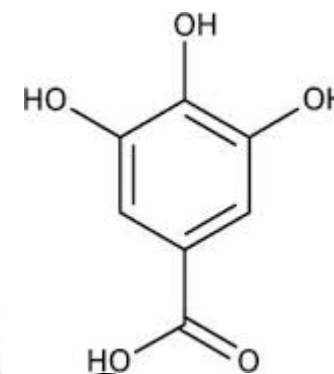
藥求安全 食在安心



(Gallfly，沒食子蜂)



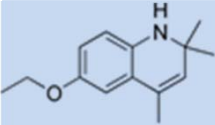
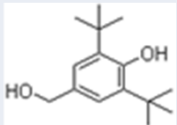
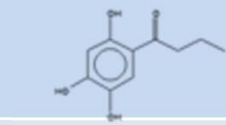
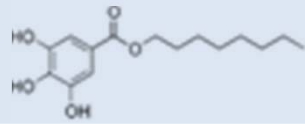
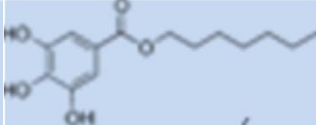
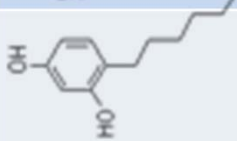
(沒食子樹)



(沒食子)

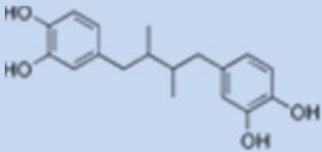
“酚”類抗氧化劑（非法）

藥求安全 食在安心

NO	中文名	英文名	結構	使用	限量
5		EQ		E324 / 172.140	100ppm
6		HMBP		21CFR 172.150	0.02%
7		THBP		181.24	0.02%
8	沒食子酸辛酯	OG		E311 / 166.110	0.02%
9	沒食子酸十二酯	DG		E321 / 166.110	0.02%
10		4-HR		E586	1 mg/kg (residue)

“酚”類抗氧化劑（非法）

藥求安全 食在安心

NO	中文名	英文名	結構	使用
11	正二氫癩創酸	NDGA		非法

（台灣，美國，歐盟，日本均為非法抗氧化劑）



Acarbose, 17- α -estradiol, and nordihydroguaiaretic acid extend mouse lifespan preferentially in males

FDA

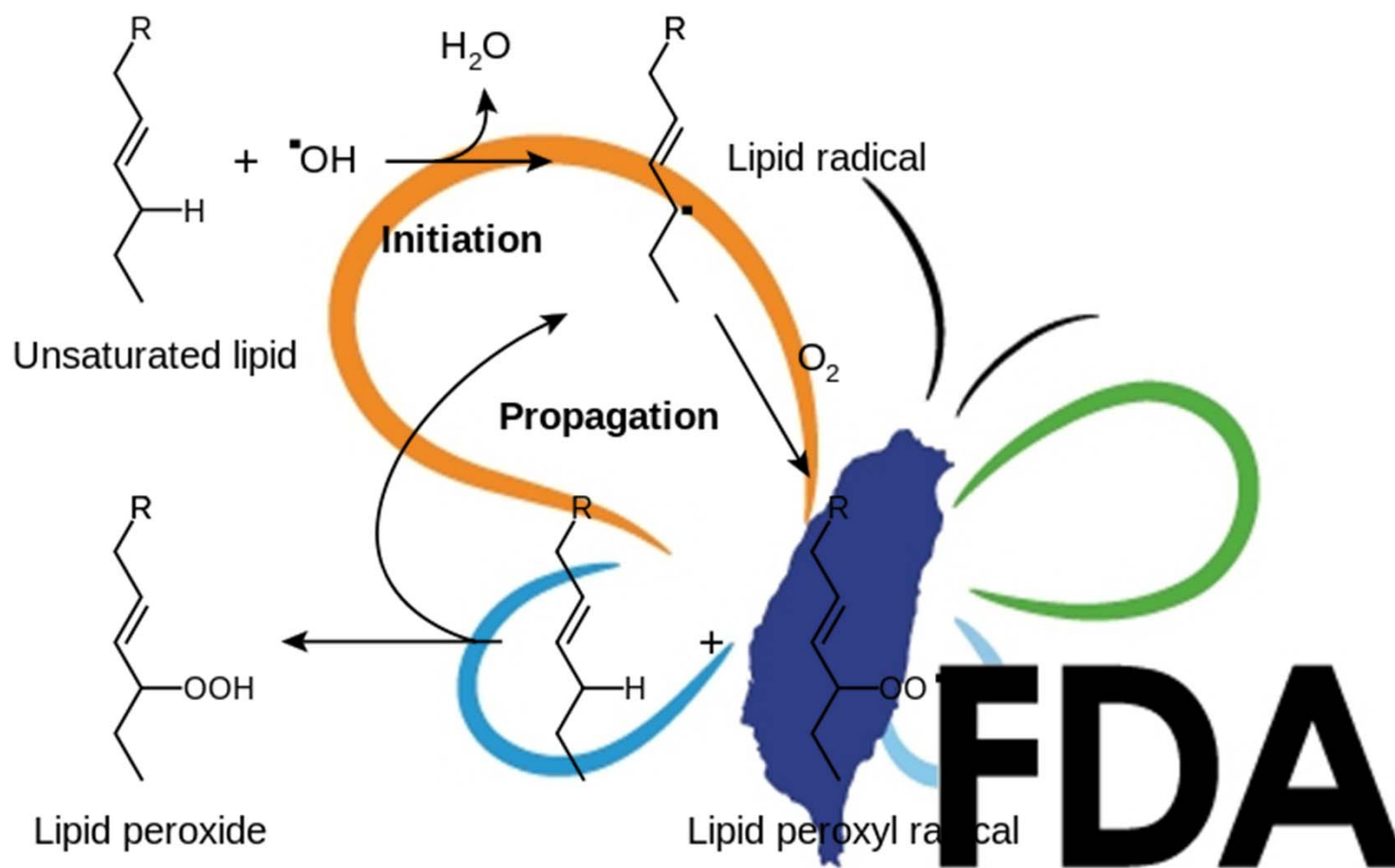


衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

脂質過氧化

藥求安全 食在安心

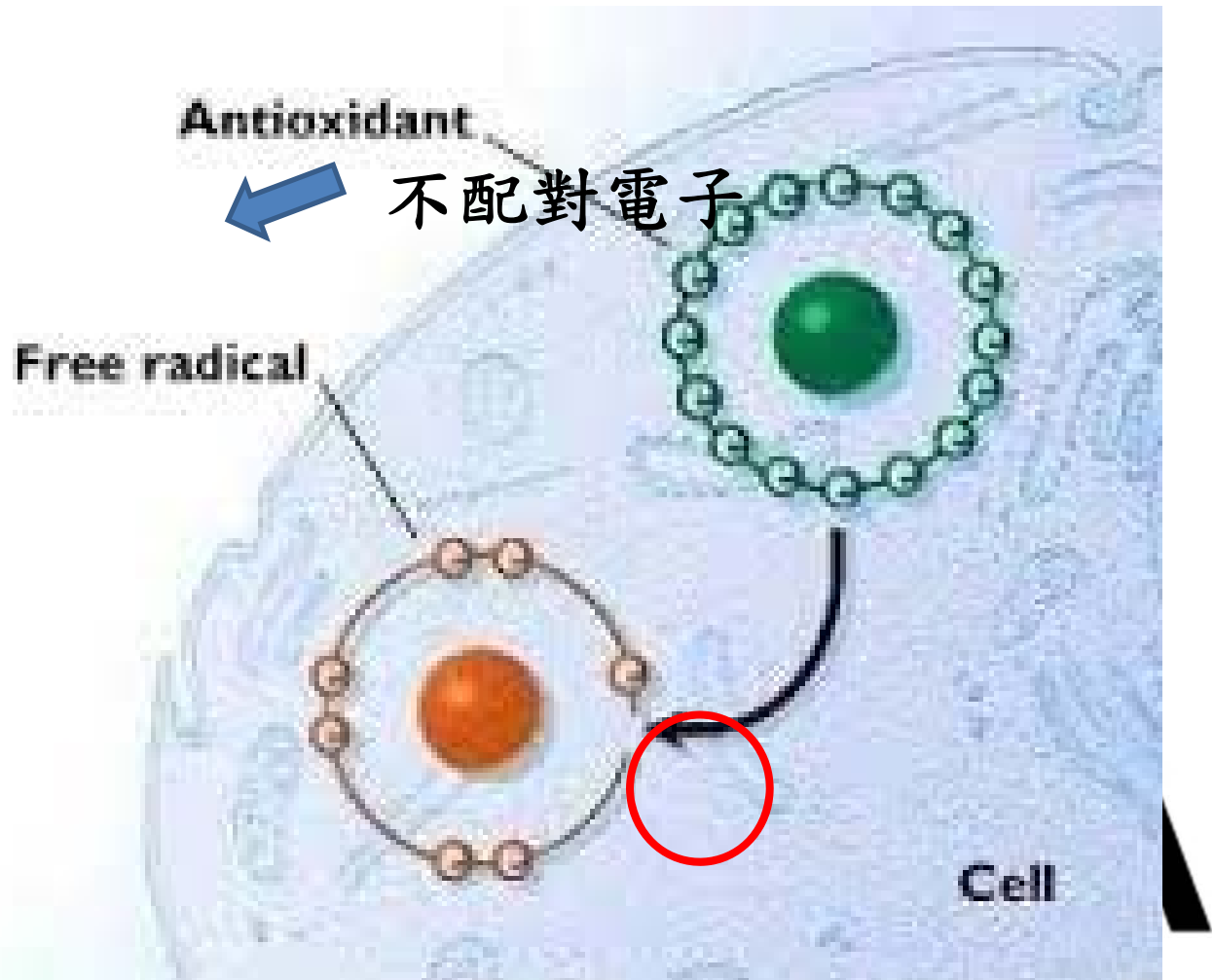


衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

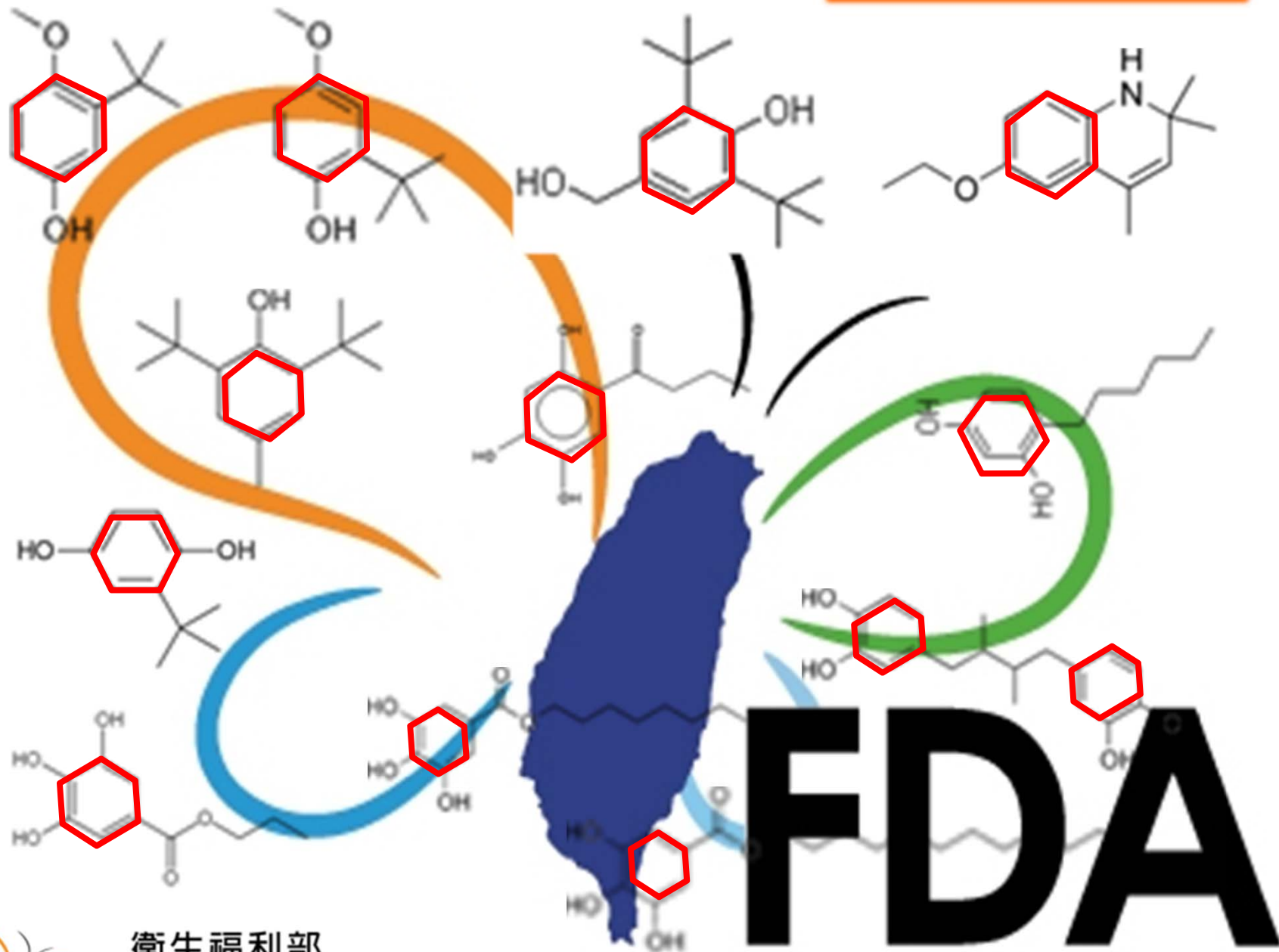
歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

抗氧化劑原理(自由基清除)

藥求安全 食在安心

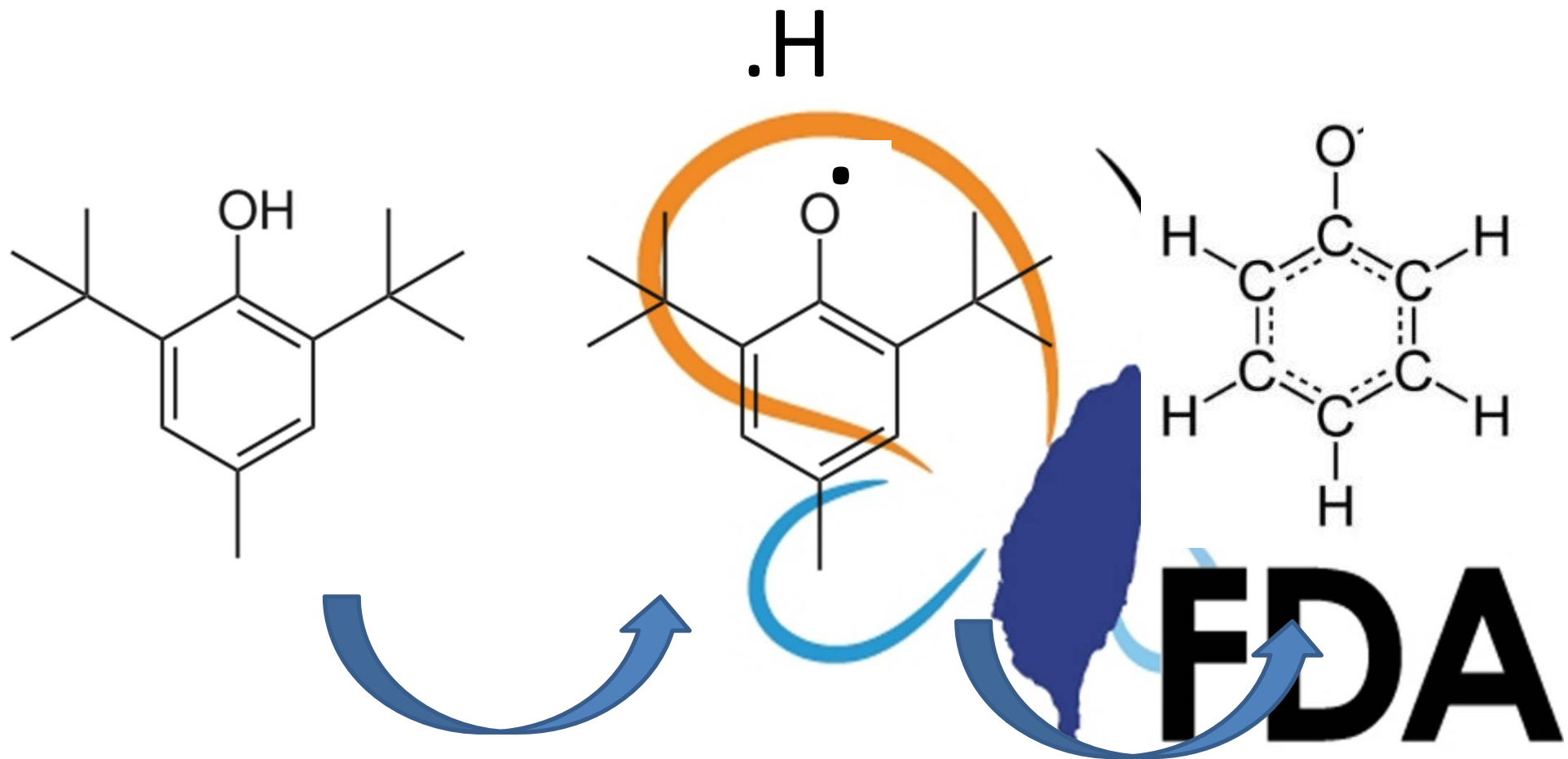


藥求安全 食在安心



抗氧化劑原理(自由基清除)

藥求安全 食在安心



食品中抗氧化劑

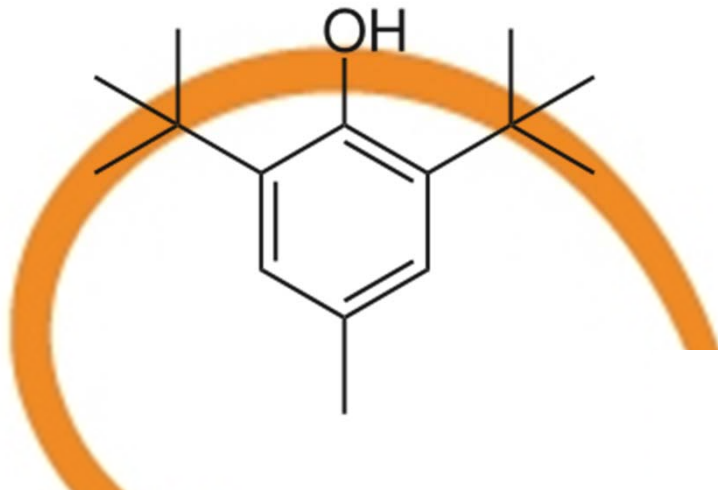
藥求安全 食在安心

- 保護食品免受氧化損傷而變質
- 不具生理傷害且安全
- 無不良味道及顏色
- 有效、便宜且具經濟性
- 抗氧化
- 抗癌
- 防止心血管疾病
- 減肥(acetylcysteine)
- 過量食用有毒性



吃泡麵會變木乃伊?

「泡麵含有防腐劑，多吃會變木乃伊」是錯誤的觀念！在泡麵油炸時，麵條的水份已被去除，微生物沒有足夠的水份可供生長或繁殖，所以泡麵根本無需添加防腐劑。而且，早在民國78年10月24日衛生署就已經公告規定『速食麵均不得添加防腐劑』；所以，市售速食麵不管麵身或調味粉包，均不可能有添加防腐劑。但泡麵經過油炸後油脂含量較多，易氧化而有油耗味，確實需要添加天然且無害的「抗氧化劑」。



BHA, BHT, and BHA have many harmful effects



表 6-1 人造奶油建議配方

原 料	用 量
水、脫脂奶粉（或脫脂奶粉 10%）、發酵乳	810 kg
食鹽	160~180 kg
乳化劑—脂肪酸甘油酯	20 kg
乳化劑—卵磷脂	2~5 kg
防腐劑—去水醋酸鈉(dehydroacetic acid)	1~2 kg
抗氧化劑— BHA 或 BHT	100~500 g

原 料	用 量
香料—奶油香料	10~20 g
色素-β-胡蘿蔔素(30%)	20 g
色素-婀娜多(annatto)(30%)	100 g
維生素 A（30 萬單位）	200 g

抗氧化劑使用範圍

藥求安全 食在安心

項次	品名	使用食品範圍及限量
1	二丁基羥基甲苯 Dibutyl Hydroxy Toluene (BHT)	浸漬液 1 g/kg； 口香糖 0.75 g/kg； 油脂 0.20 g/kg； 乾燥穀類 0.05 g/kg； 馬鈴薯顆粒 0.010 g/kg； 膠囊食品 0.40 g/kg以下。
2	丁基羥基甲氧苯 Butyl Hydroxy Anisole (BHA)	
10	沒食子酸丙酯 Propyl Gallate (PG)	油脂 、乳酪及奶油；用 量為0.10 g/kg 以下。
13	第三丁基氫醌 (TBHQ) Tertiary Butyl Hydroquinone	油脂 、乳酪及奶油；用量為0.20 g/kg 以下。

食品中抗氧化劑之檢驗方法

藥求安全 食在安心

Fast Detection of Antioxidants

第二段

報告人: 郭景豪



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

食品中11項抗氧化劑之同步分析方法

藥求安全 食在安心

Name	台灣限量 (油脂中)
BHT	0.20 g/kg
BHA	0.20 g/kg
Propyl Gallate	0.10 g/kg
TBHQ	0.20 g/kg
NDGA	不得檢出

Name	國外 允許	台灣 限量
HMBP	○	不得 檢出
THBP	○	
OG	○	
DG	○	
Ethoxyquin	○	
4-HR	○	

AOAC Official Method 983.15
Phenolic Antioxidants
in Oils, Fats, and Butter Oil

衛生福利部 公告

發文日期：中華民國105年2月26日
發文字號：部授食字第1051900163號
附件：檢驗方法1份



主旨：訂定「食品中抗氧化劑之檢驗方法－多重分析方法」，
並自中華民國一百零五年五月一日生效。
依據：食品安全衛生管理法第三十八條。



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

105 年 02 月 26 日部授食字第 1051900163 號公告訂定
MOHWA0021.00

食品中抗氧化劑之檢驗方法－多重分析方法
Method of Test for Antioxidants in Foods- Multiple Analysis

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用油脂、乳酪及人造奶油中沒食子酸丙酯(propyl gallate, PG)等11品項抗氧化劑(品項見表一)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑3 mm $\times$ 150 mm，或同級品。
 - 2.1.1.3. 高速組織研磨振盪均質機(SPEX SamplePrep 2010

食品中11項抗氧化劑之多重分析方法

藥求安全 食在安心

- 食品中11項抗氧化劑之HPLC-DAD多重分析方法。
- 以LC/MS/MS (ESI positive /negative mode)或GC/MS方法進行再確認。



裝置：

藥求安全 食在安心

- 高效液相層析儀：
- 檢出器：光二極體陣列檢出器(**photodiode array detector**)。
- 層析管：**Poroshell 120 EC-C18**，**2.7 μm** ，內徑**3 mm x150 mm**，或同級品。
- 高速組織研磨振盪均質機：**1000 rpm**以上，或同級品。
- 振盪器(**Shaker**)。
- 離心機(**Centrifuge**)：可達**5000 $\times g$** 以上。

試藥：

藥求安全 食在安心

- 異丙醇及乙腈均採用液相層析級；醋酸採用試藥特級。
- 檸檬酸鈉、檸檬酸氫二鈉、無水硫酸鎂及氯化鈉均採用分析級。

萃取粉劑	
Sorbent	Quantity (g)
檸檬酸鈉	1
檸檬酸氫二鈉	0.5
無水硫酸鎂	4
氯化鈉	1



衛生福利部
食品藥物管理署
FDA Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

DA

移動相溶液之調製：

移動相溶液A：

- 取醋酸**50 mL**，加去離子水使成**1000 mL**，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

移動相溶液B：乙腈。



標準溶液之配製

藥求安全 食在安心

- 取抗氧化劑對照用標準品約**100 mg**，精確稱定，以異丙醇溶解並定容至**10 mL**，作為標準原液，於**-18°C**避光貯存。

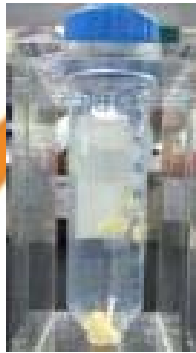
- 標準曲線：

以**50%乙腈**溶液稀釋

PG、THBP、TBHQ、NDGA、BHA、4-HR、OG、DG及BHT 0.25~20 µg/mL，

ETH及HMBP 1~20 µg/mL，供作標準溶液。

檢液製備



0.5 g 檢體

↓
8 mL 水、
10 mL ACN

↓
加入萃取粉劑

↓
振盪10 min、離心5 min

↓
取上清液 0.5 mL

↓
加入去離子水 0.5 mL

↓
上機

離心前



離心後



檢液製備說明

藥求安全 食在安心

- ◆ 萃取用粉劑使用時需加入去離子水。可針對極性較高之抗氧化劑進行萃取，檢體使用萃取粉劑進行激烈振盪萃取後有鹽析作用，上下分層，下層是水層與部分結塊的鹽類，上層則是待測物與乙腈層。根據方法中2.7.檢液之調製一節中，「加入去離子水8 mL水及乙腈10 mL」，因此含量測定之公式中，萃取檢體之乙腈體積為10 mL。
- ◆ 本方法初始移動相為醋酸水溶液:乙腈(85/15,v/v)，檢液配製比例為水:乙腈(50/50,v/v)。方法之檢液配製比例，與初始移動相類似，可使HPLC圖譜峰型較佳。
- ◆ 待測物為抗氧化劑，穩定性不佳，整批次實驗數據宜於一天內完成。

HPLC分析條件

HPLC-DAD分析條件

- 移動相：
 - 5%醋酸溶液(A)、乙腈(B)梯度流洗
- 層析管：
 - Agilent poroshell C18，2.7 μm ，內徑 3 × 150 mm
- 移動相流速：
 - 0.7 mL/min
- 注入體積：
 - 10 μL
- 層析管溫度：
 - 45 °C
- 光二極體陣列檢測器：
 - 波長掃描範圍350 ~ 800 nm，預設波長280 nm

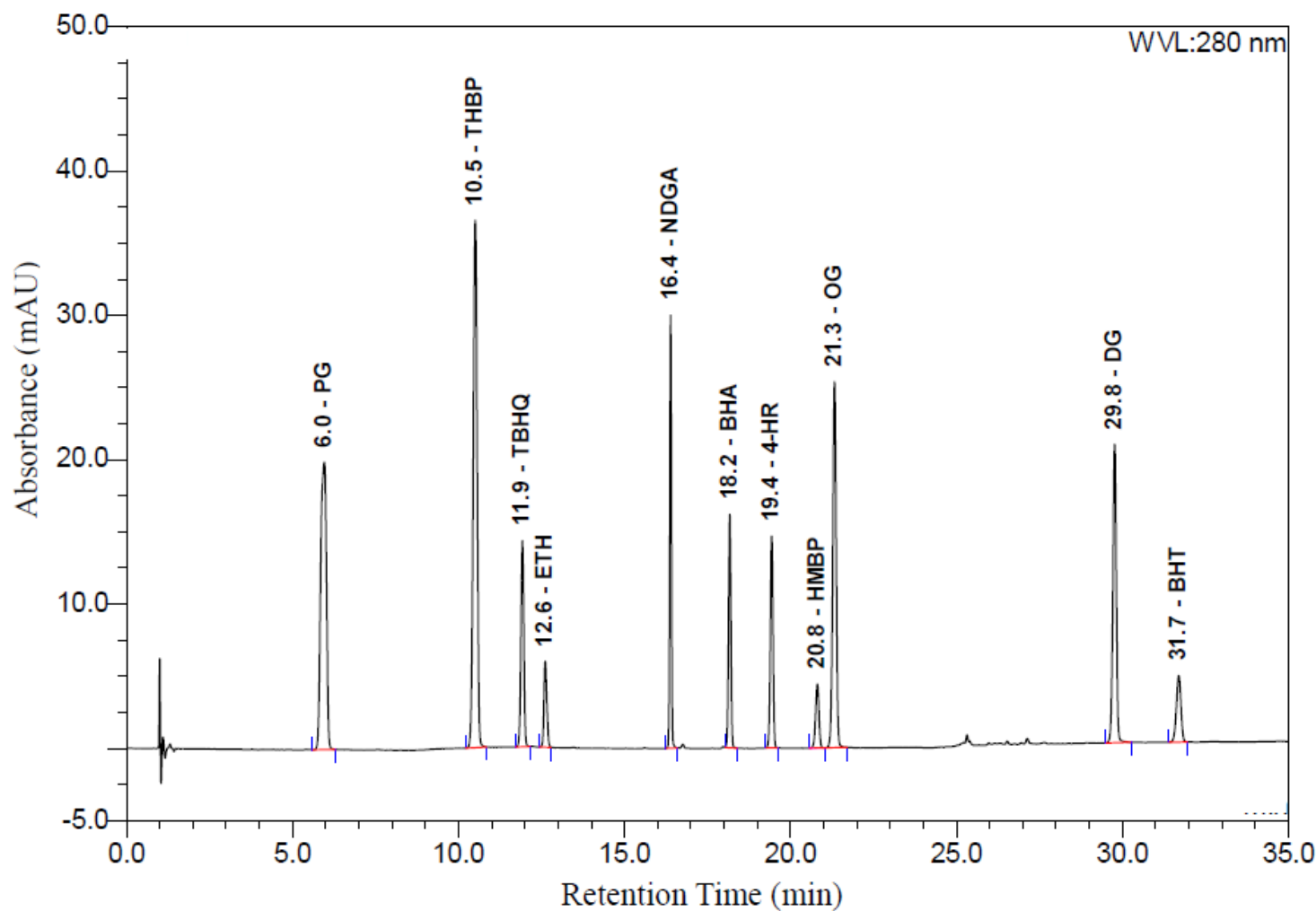


Time	A (%)	B (%)
0	85	15
7	85	15
15.5	55	45
22	55	45
23	35	65
34	35	65
34.1	85	15
40	85	15

- 本方法背壓低於**7000 psi**，建議使用**UPLC**等級之液相層析儀，本方法管柱箱溫度控制於**45°C**。
- 進樣系統(**autosampler**)溫度控制於**4°C**。避免樣品氧化。



藥求安全 食在安心



A



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

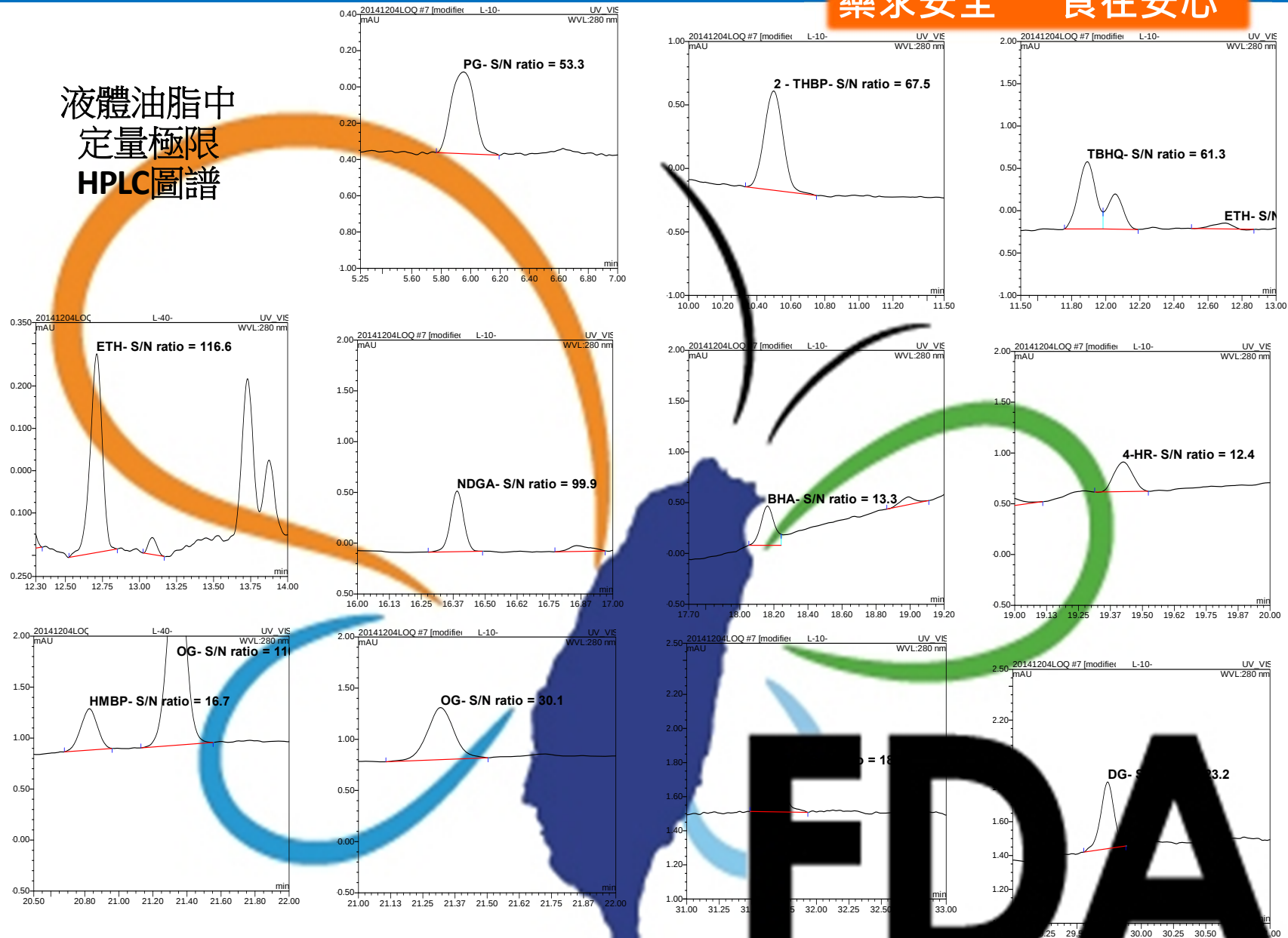
Spiked level (g/kg)	0.4		0.2	
分析物	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)
PG	105.6	6.5	90.7	6.3
THBP	113.0	6.0	91.2	5.2
TBHQ	117.3	3.6	99.8	3.7
ETH	105.8	4.5	89.7	6.9
NDGA	110.7	6.1	91.5	6.6
BHA	104.0	6.4	88.7	6.6
4-HR	109.1	2.7	89.0	6.4
HMBP	100.9	3.9	90.6	5.3
OG	104.4	5.0	88.7	6.3
BHT	93.8	8.3	72.9	5.1
DG	115.4	4.4	85.0	6.1

分析物	定量 極限 (g/kg)	訊噪比(S/N ratio)	
		液態 油脂	固態 油脂
PG	0.01	53.3	45.6
THBP	0.01	38.9	67.5
TBHQ	0.01	61.3	18.0
ETH	0.04	116.6	53.8
NDGA	0.01	99.9	59.5
BHA	0.01	13.3	13.7
4-HR	0.01	12.4	23.2
HMBP	0.04	16.7	30.9
OG	0.01	30.1	58.8
BHT	0.01	18.5	14.7
DG	0.01	23.2	22.8

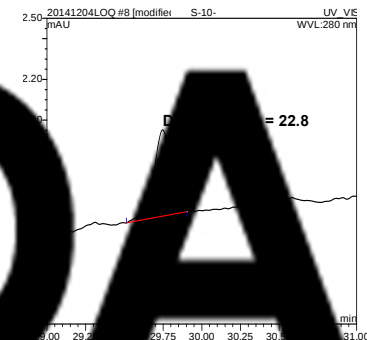
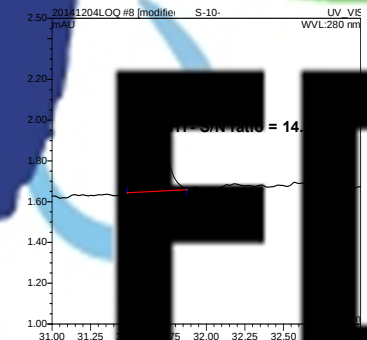
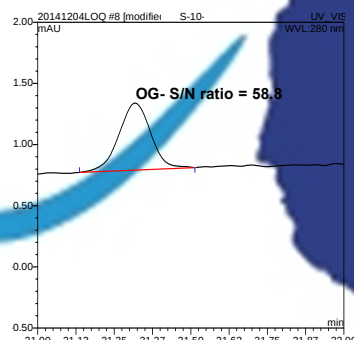
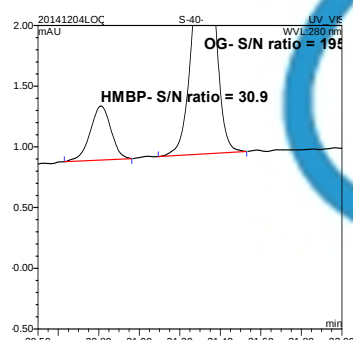
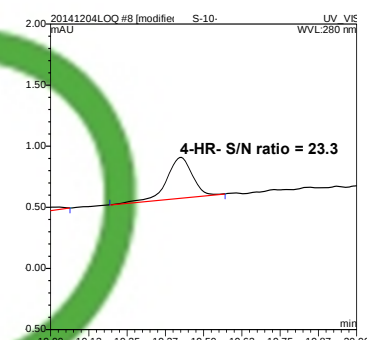
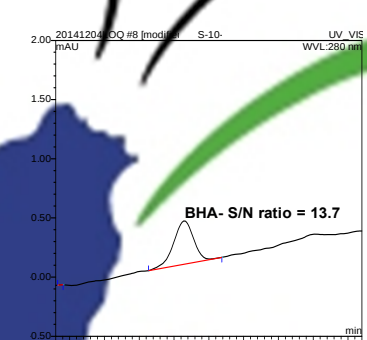
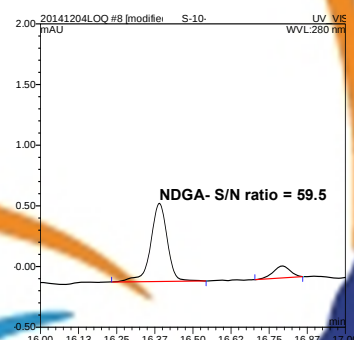
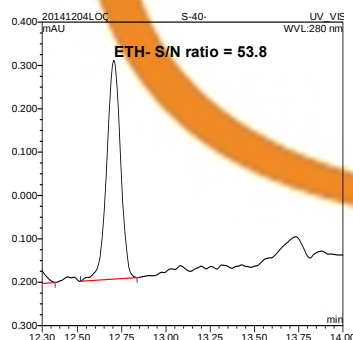
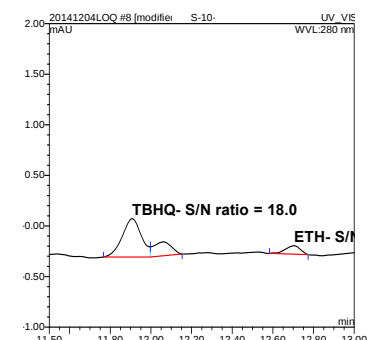
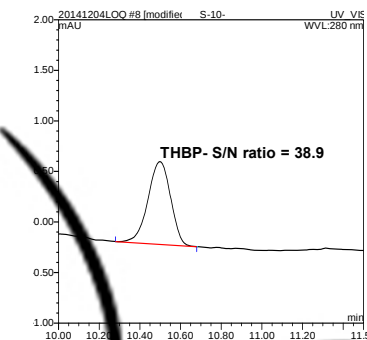
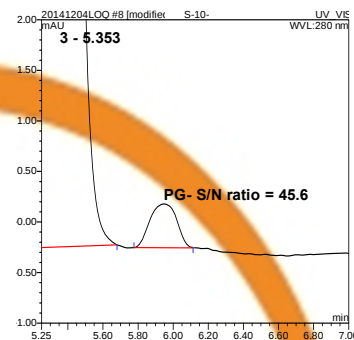
藥求安全

食在安心

液體油脂中
定量極限
HPLC圖譜



固體油脂中
定量極限
HPLC圖譜



FDA



衛生福利部

食品藥物管理署
FDA Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

LC/MS/MS 確認方法

LC條件同HPLC-DAD。

離子源採電灑法離子化，可同時偵測正/負離子。

離子噴霧電壓(Ionspray voltage)：4500 V。

游離源溫度(Source temperature)：450 °C。

加熱氣體(Turbo gas)：50 psi。

氣簾氣體(Curtain gas)：10 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：5 psi。

霧化氣體(Nebulizer gas)：50 psi。

偵測模式：多重反應偵測模式(MRM)。



LC/MS/MS MRM parameter

compound	Precursor ion m/z	Product ions (P1/P2) m/z	DP (V)	CE (P1/P2) (eV)	Ionization mode
PG	211	169/124	-55	-21/-34	negative
TBHQ	165	149/108	-33	-30/-31	negative
THBP	195	125/166	-50	-28/-28	negative
ETH	218	174/160	44	40/48	positive
BHT	219	203/163	-60	-35/-35	negative
BHA	179	164/149	-33	-20/-35	negative
OG	281	124/169	-80	-42/-29	negative
DG	337	124/169	-110	-52/-36	negative
NDGA	301	122/273	-6	-3/-36	negative
HMBP	235	217/160	-5	-3/-36	negative
4HR	193	149/122	-4	-3/-27	negative

PG
211/169

ETH
218/174

OG
281/124

HMBP
235/217

安心

PG
211/124

ETH
218/160

OG
281/169

HMBP
235/160

TBHQ
165/149

BHT
219/203

DG
337/124

4-HR
193/149

TBHQ
165/108

BHT
219/163

DG
337/169

4-HR
193/122

THBP
195/125

BHA
179/164

NDGA
301/122

LC/MS/MS圖譜

THBP
195/166

BHA
179/149

NDGA
301/273

植物精油檢體
前添加11種抗氧化劑
(200 mg/kg)

司部
管理

GC/MS 確認方法

- 層析管柱: DB5-HT (15 m x 0.25 mm x 0.1 µm)
- 注射器溫度: 250°C
- 偵測器溫度: 250°C
- 流速: 1.76 mL/min
- 載流氣體: Helium
- 分流比: 20
- 升溫條件 :

Time	Temp.
0	40
1	40
10.5	230
17	230



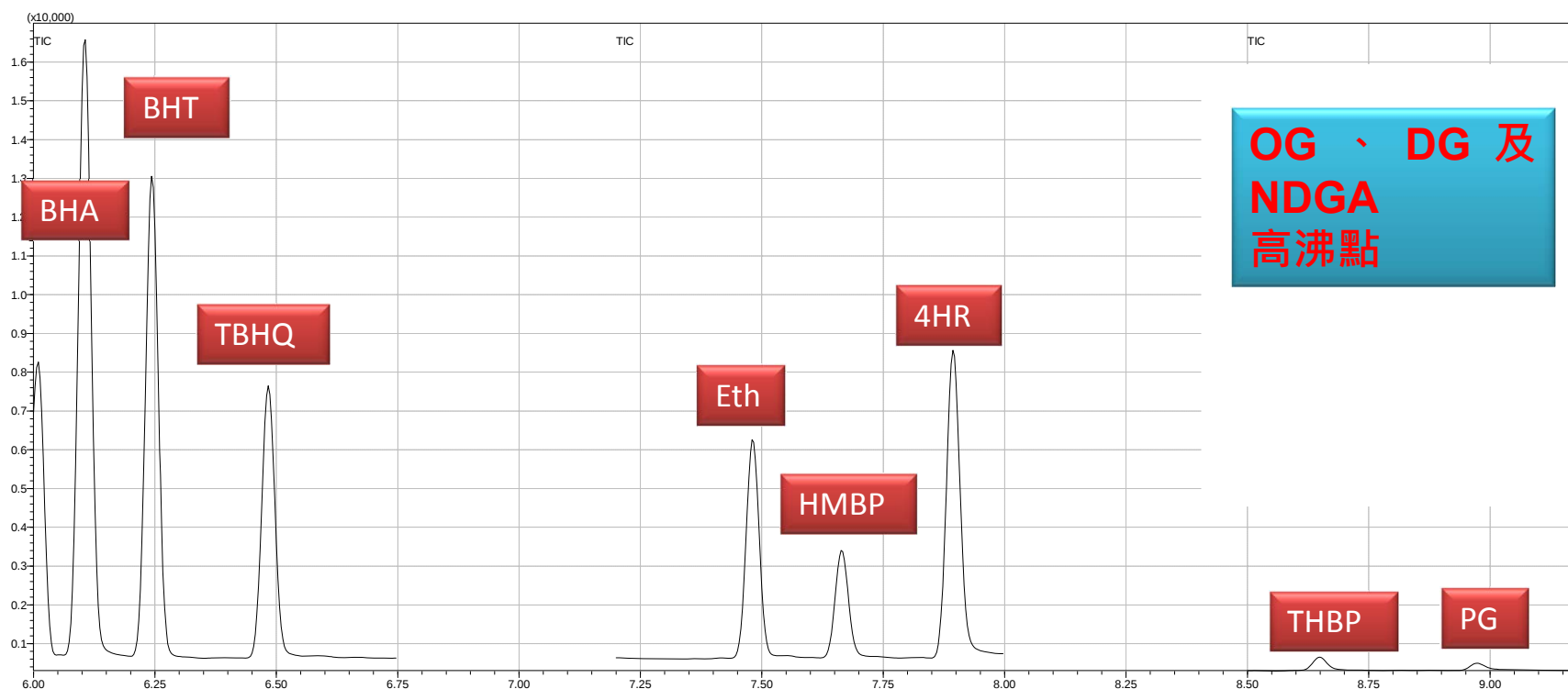
GC/MS SIM 參數設定

離子源溫度：	250 °C
掃描模式：	SIM
Sovlent delay:	0-0.5 min
Dewell time:	0.20 sec

Antioxidant	Quantification ion	Confirmation ions	Molecular mass
BHA	137	165(91), 180(39)	180
BHT	205	145(15), 220(25)	220
TBHQ	123	151(61), 166(27)	166
ETH	202	174(65), 217(11)	217
HMBP	221	161(46), 236(23)	236
4HR	123	125(1), 136(1)	194
THBP	153	181(13), 196(27)	196
PG	170	153(124), 212(55)	212

GC/MS圖譜(SIM)

藥求安全 食在安心



以GC/MS分析空白植物奶油檢體與其前添加11項抗氧化劑
(40 mg/kg)之SIM層析圖譜

FDA

定量極限(LOQ, mg/kg)

藥求安全 食在安心

Target	11項抗氧化劑之同步分析方法			法規限量
	LC/DAD	LC/MS/MS	GC/MS	
BHT	20	X	○	200
BHA	10	○	○	200
PG	10	○	○	100
TBHQ	10	○	○	200
NDGA	10	○	X	不得檢出
HMBP	40	○	○	不得檢出
THBP	10	○	○	不得檢出
OG	10	○	X	不得檢出
DG	10	○	X	不得檢出
Ethoxyquin	40	○	○	不得檢出
4-HR	10	○	○	不得檢出



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

104年「食品化學檢驗方法溝通平台之建置」

藥求安全 食在安心

共邀請**4**家實驗室參加食品中抗氧化劑檢驗方法之實驗室間比對。

比對項目(同日及異日)：
檢量線、三種基質三種濃度之添加回收實驗
(二重複)

抗氧化劑	添加濃度(g/kg)		
	第1組	第2組	第3組
PG、THBP、TBHQ、NDGA、BHA 4-HR、OG、及DG	0.01	0.05	0.1
BHT	0.02	0.1	0.2
ETH及HMBP	0.04	0.2	0.4



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

檢量線線性迴歸係數(r)

藥求安全

食在安心

	A	B	C	D
PG	1	1	1	0.997
THBP	0.998	1	1	0.994
TBHQ	1	1	1	0.993
NDGA	0.999	1	1	0.999
BHA	0.9999	1	1	1
4HR	1	1	1	0.995
OG	1	1	1	0.996
DG	1	1	1	0.996
BHT	1	1	1	0.999
ETH	0.999	1	1	0.999
HMBP	0.999	1	1	0.999



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

添加回收實驗結果

藥求安全 食在安心

PG-實驗室A 奶油基質之添加回收率回報結果

基質：奶油					
	day 1	day2	day3		
添加PG 0.01 g/kg-重複1	110.6%	103.4%	114.4%	平均值	110.8%
添加PG 0.01 g/kg-重複2	114.7%	109.6%	112.2%	標準差	4.1%
0.01 g/kg-日內相對差異百分比	3.60%	5.78%	1.97%		
添加PG 0.05 g/kg-重複1	96.7%	96.3%	91.5%	平均值	95.4%
添加PG 0.05 g/kg-重複2	94.7%	99.6%	93.9%	標準差	2.8%
0.05 g/kg-日內相對差異百分比	2.16%	3.32%	2.64%		
添加PG 0.1 g/kg-重複1	88.9%	89.8%	85.8%	平均值	86.7%
添加PG 0.1 g/kg-重複2	85.5%	86.3%	84.2%	標準差	2.2%
0.1 g/kg-日內相對差異百分比	3.95%	4.02%	1.86%		
平均值	98.5%	97.5%	97.0%		
標準差	11.7%	8.6%	13.2%		

A

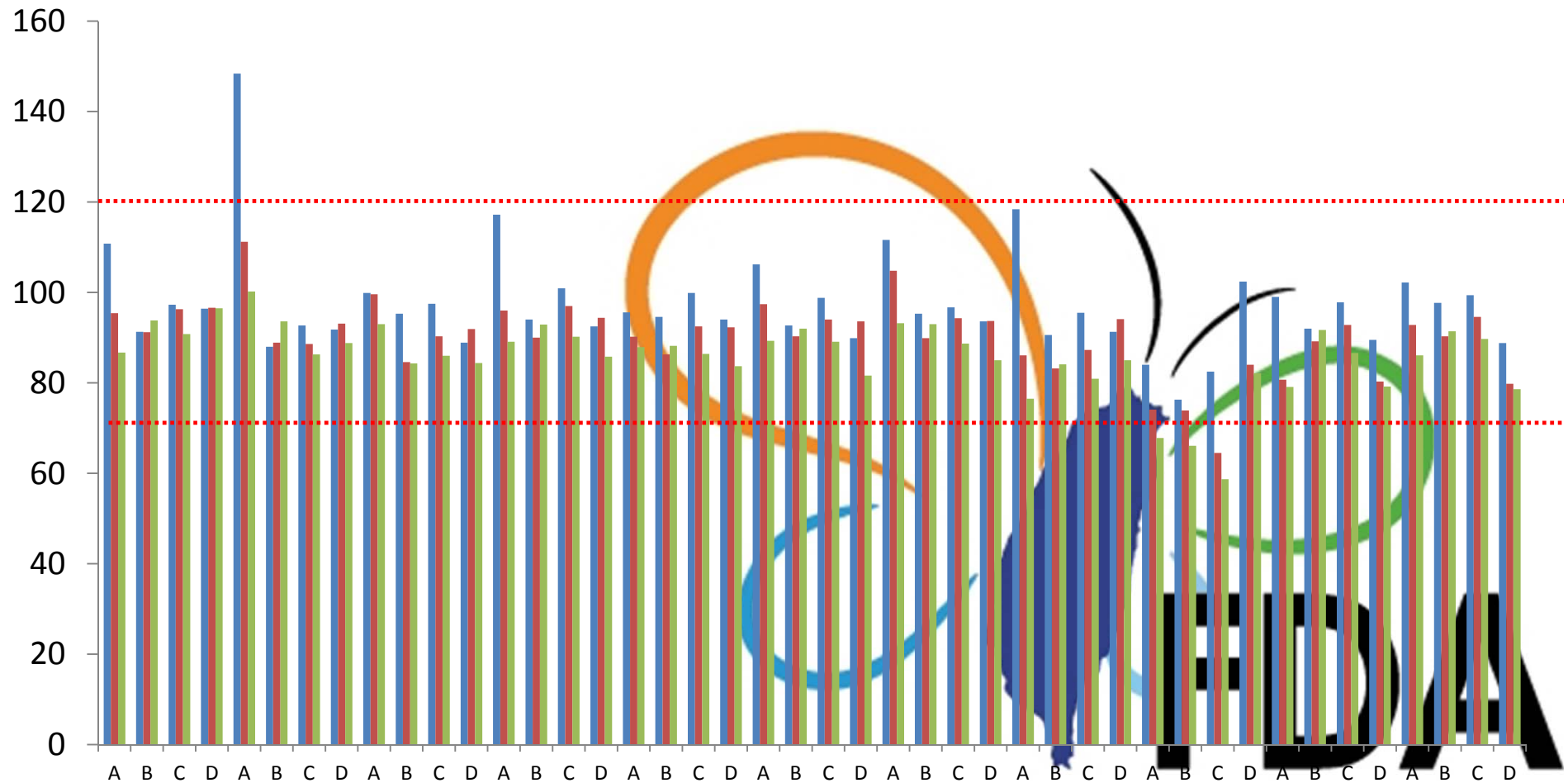


衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

奶油基質添加回收率結果(異日間)

藥求安全 食在安心

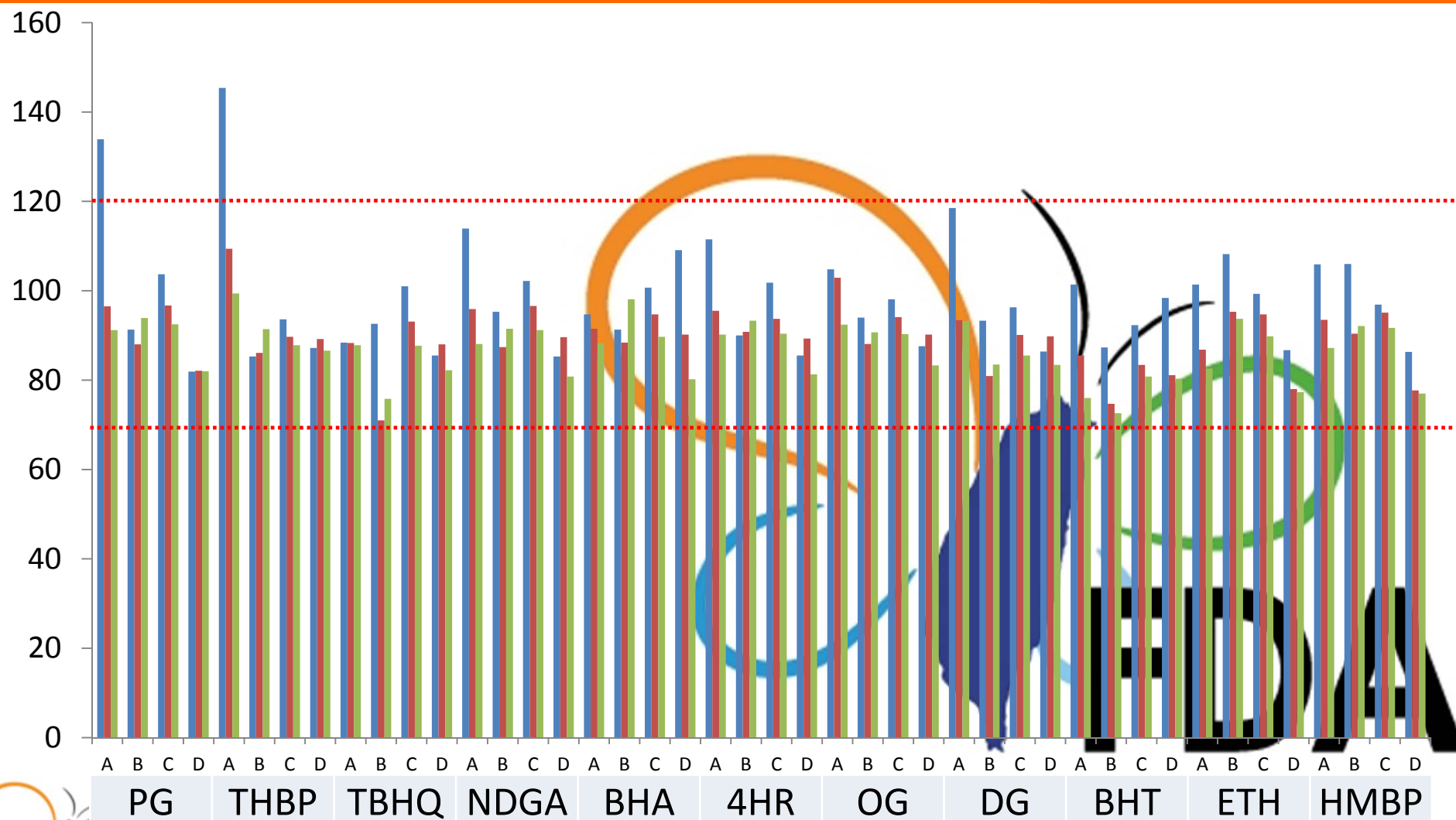


食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

人造奶油基質添加回收率結果(異日間)

藥求安全 食在安心

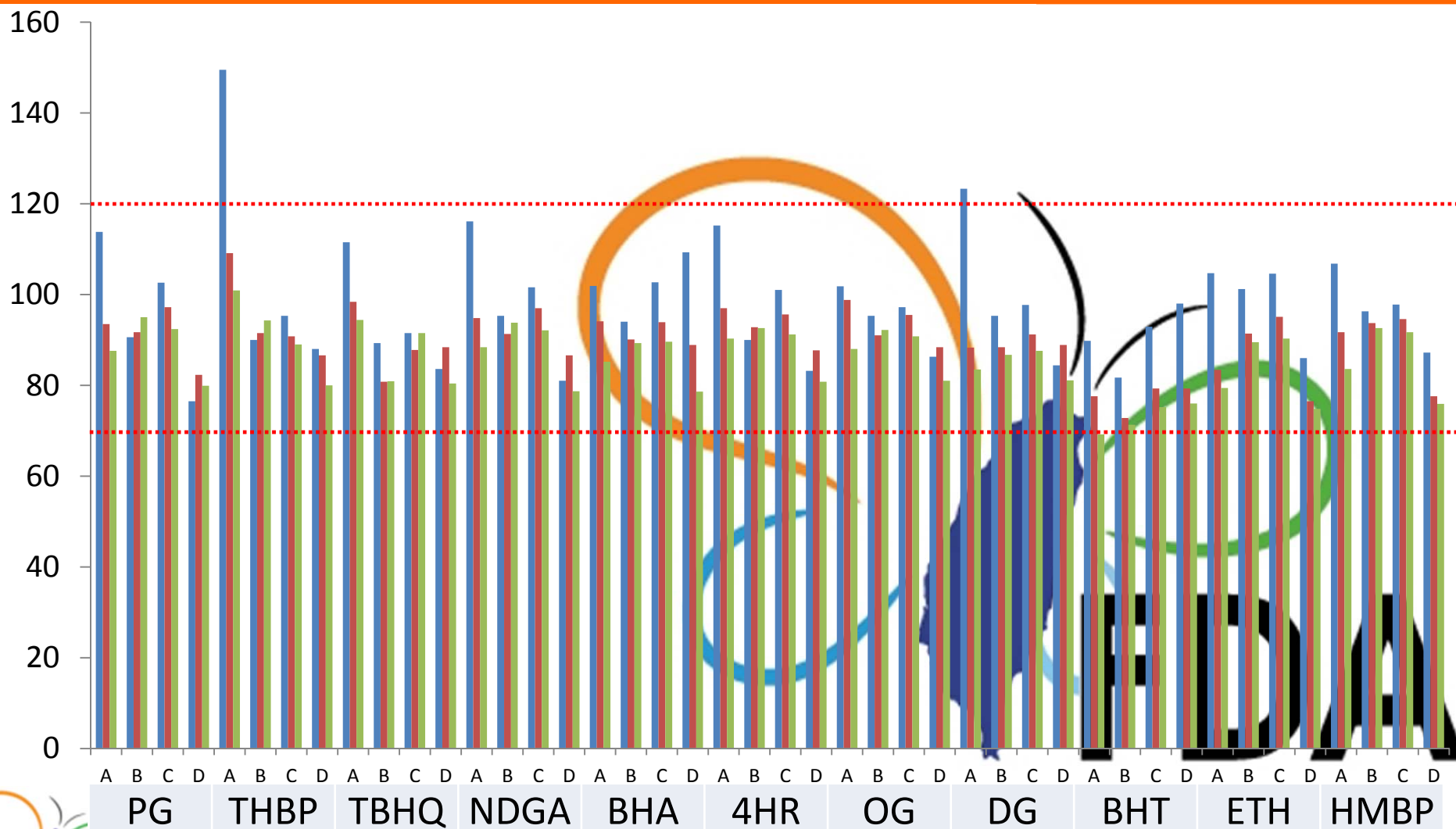


食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

大豆油基質添加回收率結果(異日間)

藥求安全 食在安心

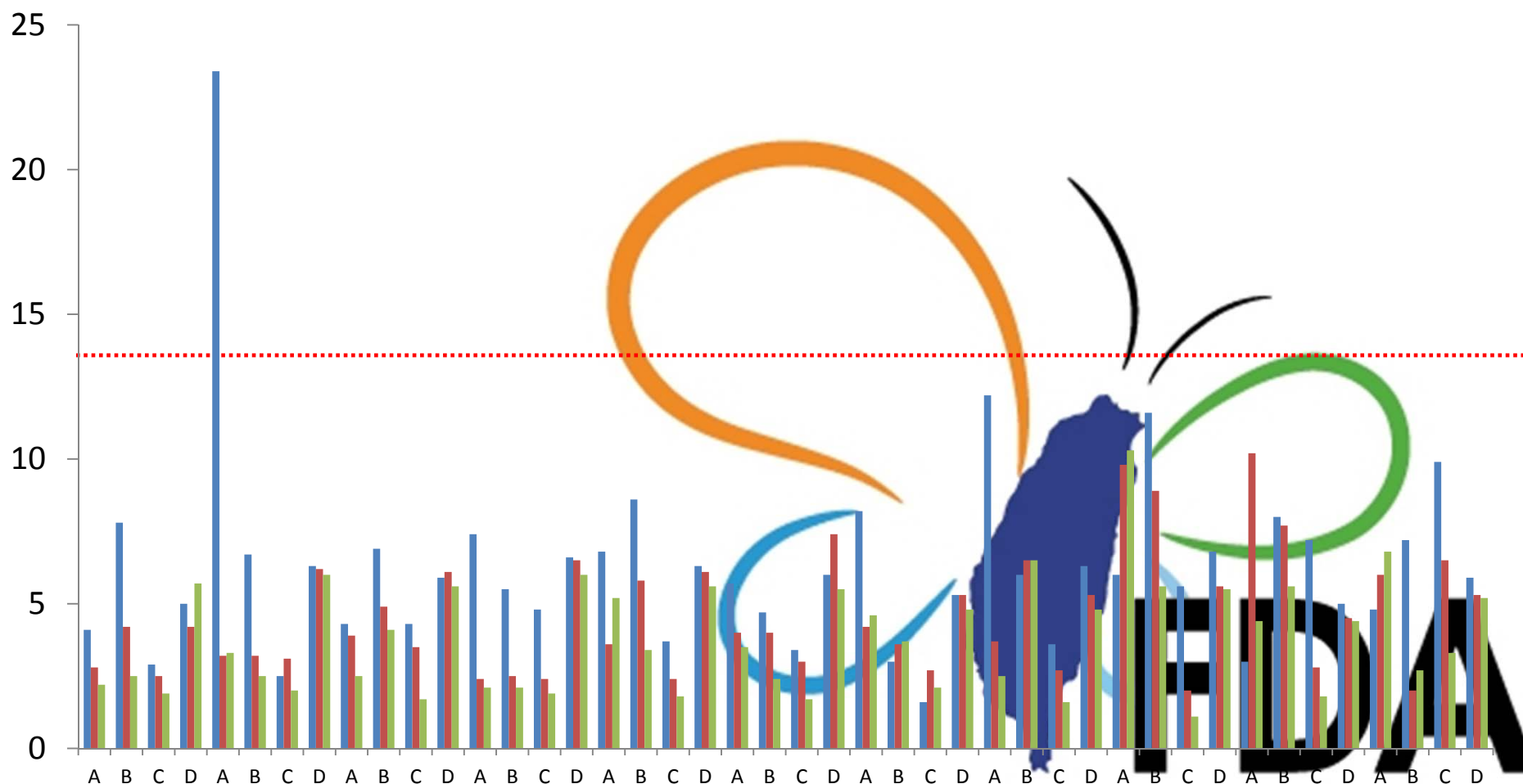


食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

奶油基質添加重複性結果(異日間)

藥求安全 食在安心

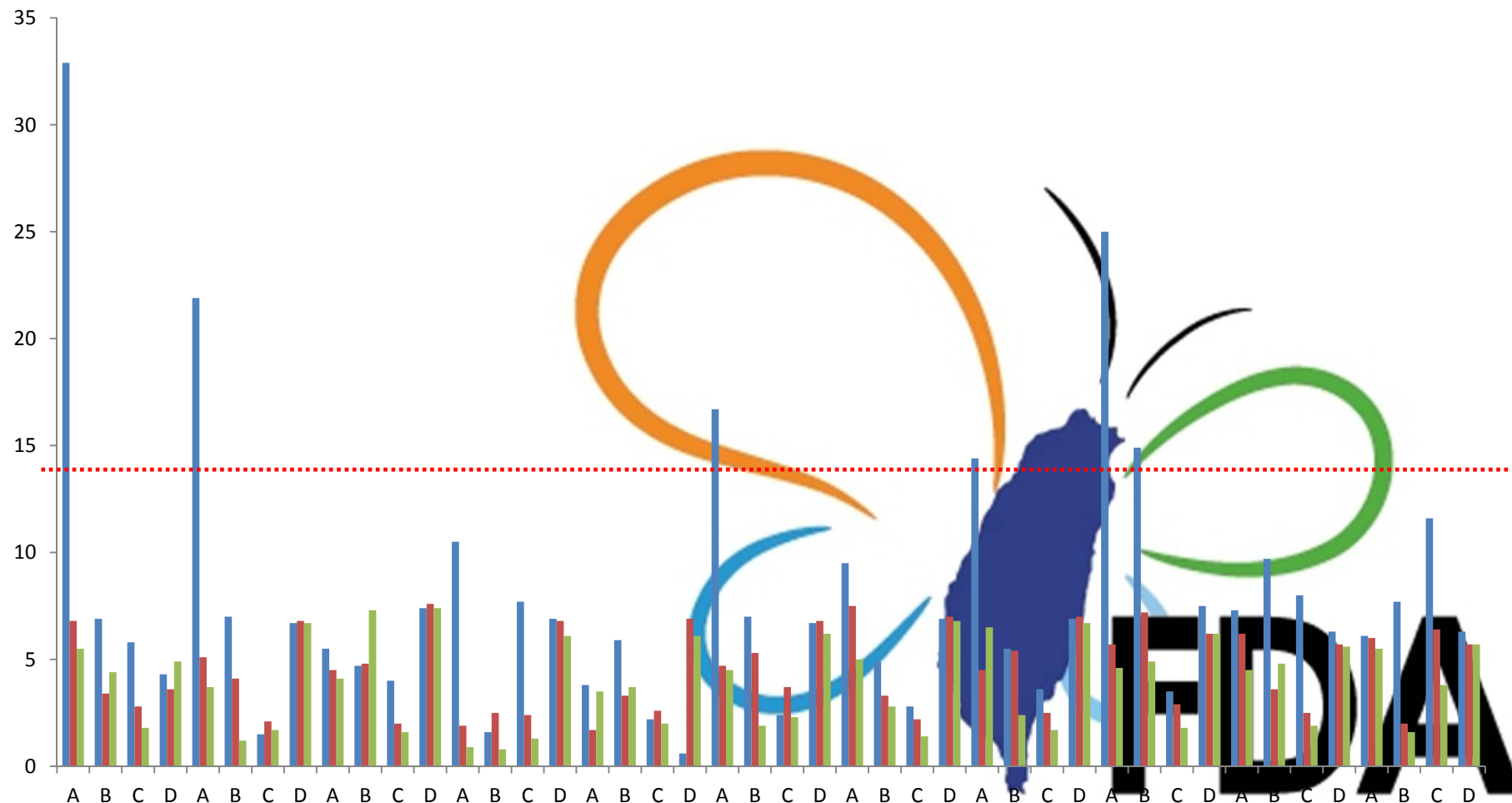


食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

人造奶油基質添加重複性結果(異日間)

藥求安全 食在安心

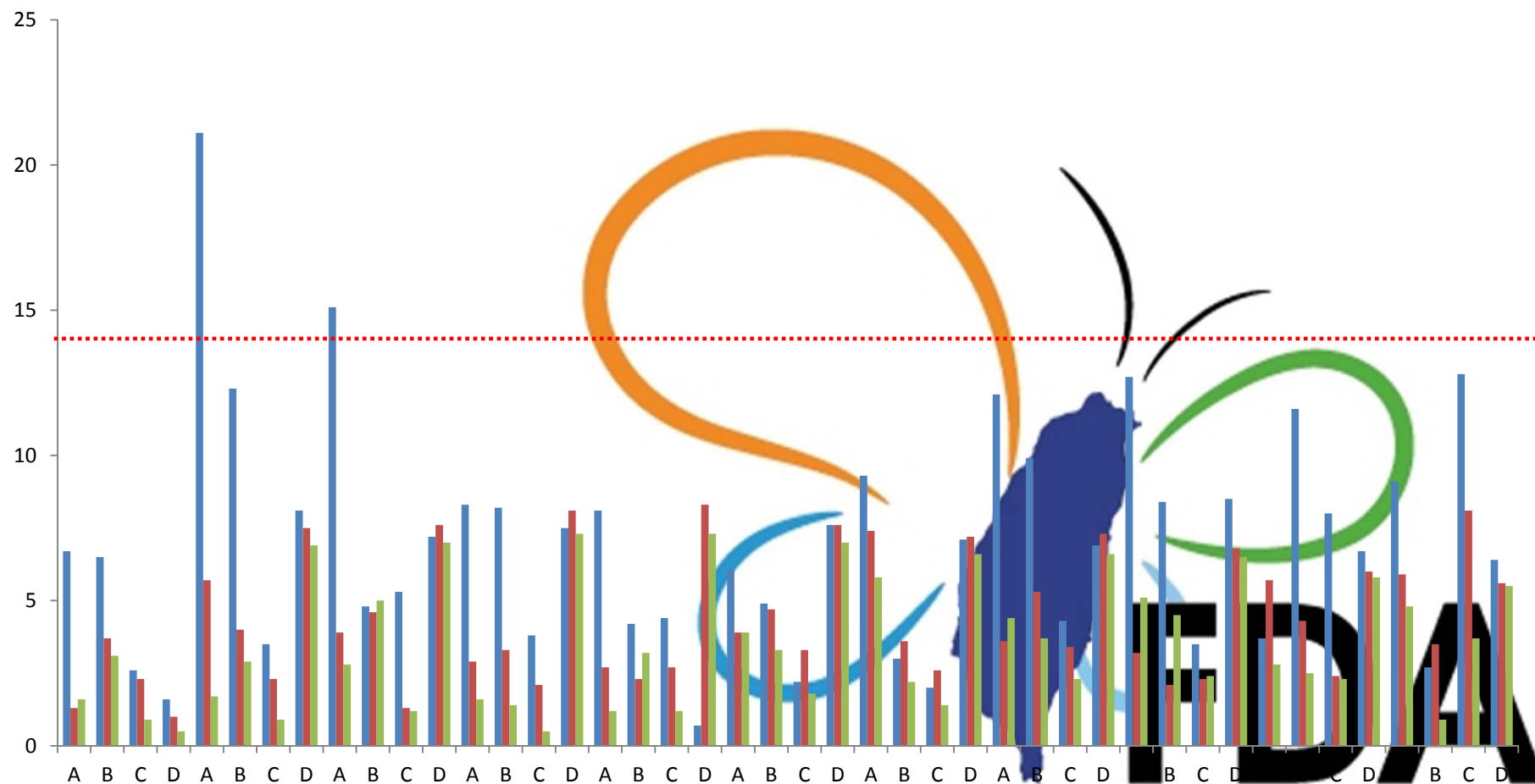


食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

大豆油基質添加重複性結果(異日間)

藥求安全 食在安心



PG THBP TBHQ NDGA BHA 4HR OG DG BHT ETH HMBP

食品藥物管理署
Food and Drug Administration

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

參與FAPAS能力試驗

藥求安全 食在安心

2015年11月 FAPAS proficiency test 20122

- 能力試驗項目：油脂中BHA、BHT及PG含量
- FAPAS結果：

	總參與實驗室	合格實驗室 $ Z \leq 2$	檢測濃度 (mg/kg)	Z-score	合格
BHA	67	61	72.13	-0.3	√
BHT	65	56	22.45	-1.2	√
PG	36	31	45.67	-1.0	√

歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

安全

安門

安定

安通

安產

檢驗方法諮詢信箱：

TFDAmethod@fda.gov.tw