焦糖色素

Caramel Colors

別名: 焦糖色素共分為四大類, 各類別之別名如下:

第一類:普通焦糖(Plain caramel) INS No. 150a

第二類:亞硫酸鹽焦糖(Sulfite caramel) INS No. 150b

第三類: 銨鹽焦糖(Ammonia caramel) INS No. 150c

第四類:亞硫酸-銨鹽焦糖(Sulfite ammonia caramel) INS No. 150d

定義: 焦糖色素係為複雜混合物,其中某些為膠狀聚合物。焦糖色素之製程,可 單純由碳水化合物加熱產生,或與酸、鹼及鹽類等反應製得,依其製程中 使用之反應物可分為以下四大類:

第一類:普通焦糖:由碳水化合物在有無酸或鹼之存在下加熱製取;未使 用銨鹽或亞硫酸鹽化合物。

第二類:亞硫酸鹽焦糖:由碳水化合物與亞硫酸鹽化合物在有無酸或鹼之 存在下加熱製取;未使用銨鹽化合物。

第三類:銨鹽焦糖:由碳水化合物與銨鹽化合物在有無酸或鹼之存在下加 熱製取;未使用亞硫酸鹽化合物。

第四類:亞硫酸-銨鹽焦糖:由碳水化合物與亞硫酸鹽及銨鹽化合物在有 無酸或鹼之存在下加熱製取。

前述碳水化合物之原料需為食品等級之糖類如葡萄糖、果糖或其多醣;使用之酸、鹼化合物亦須為食品等級如硫酸、檸檬酸、氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化鈣或其混合物等。可使用之銨鹽化合物:氫氧化銨、碳酸銨、碳酸氫銨、磷酸銨、硫酸銨、亞硫酸銨、亞硫酸氫銨。可使用之亞硫酸鹽化合物:亞硫酸、亞硫酸之鉀鹽、鈉鹽、銨鹽及亞硫酸氫鉀鹽、鈉鹽、銨鹽。製程中可使用食品等級之消泡劑。

- 1. 外 觀: 深棕色至黑色之液體或固體,具有焦糖氣味。
- 2. 溶 解 度: 可與水互溶。
- 3. 分類鑑別: 第一類:50%以下之本色素與 DEAE 纖維素(diethylaminoethyl cellulose)結合,50%以下之本色素與磷酸纖維素 (phosphoryl cellulose)結合。
 - 第二類:大於 50%之本色素與 DEAE 纖維素結合,且其吸光比值(absorbance ratio)大於 50。
 - 第三類:50%以下之本色素與 DEAE 纖維素結合,大於 50%之本色素與磷酸纖維素結合。
 - 第四類:大於 50%之本色素與 DEAE 纖維素結合,且其吸光比值小於 50。
 - (1)吸光比值:配製 1 mg/mL 之檢品溶液,呈混濁時,需離心, 再將檢品溶液稀釋至 50 μg/mL,作為稀釋檢品溶液。取檢

品溶液及稀釋檢品溶液分別置於1cm石英管,按照吸光度 測定法(附錄 A-13),以水為對照溶液,分別於波長560 nm 測定檢品溶液之吸光度及於波長280 nm 測定稀釋檢品溶液 之吸光度,依下列計算式求得檢品之吸光比值:

吸光比值 =
$$\frac{A_{280}}{A_{560}} \times 20$$

A280:稀釋檢品溶液於波長 280 nm 之吸光度

A560: 檢品溶液於波長 560 nm 之吸光度

20:稀釋倍數

(2)DEAE 纖維素結合試驗:取適量本品,以 0.025 N 鹽酸溶液定容至 100 mL,呈混濁時,需離心或過濾,供作檢品溶液(於波長 560 nm 吸光度約 0.5)。取檢品溶液 20 mL,加 DEAE纖維素(具有 1.0 mEq/g 結合容量) 140 mg,充分混合數分鐘,離心或過濾,取上清液。取檢品溶液及上清液分別置於 1 cm 石英管,按照吸光度測定法(附錄 A-13),以 0.025 N 鹽酸溶液為對照溶液,於波長 560 nm 測定吸光度,依下列計算式求得本色素與 DEAE 纖維素結合百分比(%):

本色素與 DEAE 纖維素結合百分比(%) =
$$\frac{X_1 - X_2}{X_1} \times 100$$

X₁:檢品溶液之吸光度

X2:上清液之吸光度

(3)磷酸纖維素結合試驗:取本品 200~300 mg,以 0.025 N 鹽酸溶液定容至 100 mL,呈混濁時,需離心或過濾,供作檢品溶液。取檢品溶液 40 mL,加磷酸纖維素(具有 1.2 mEq/g 結合容量) 1.42 g,混合數分鐘,離心或過濾,取上清液。取檢品溶液及上清液分別置於 1 cm 石英管,按照吸光度測定法(附錄 A-13),以 0.025 N 鹽酸溶液為對照溶液,於波長560 nm 測定吸光度,依下列計算式求得本色素與磷酸纖維素結合百分比(%):

本色素與磷酸纖維素結合百分比(%) =
$$\frac{X_1 - X_2}{X_1} \times 100$$

X₁:檢品溶液之吸光度

X2:上清液之吸光度

4. 固形物含量: (1)液態檢品:取可通過 40 號篩網,但不通過 60 號篩網之石英砂,經鹽酸消化,以水清洗至不含酸,再乾燥熾灼。取本品 1.5~2.0 g,加入預經處理之石英砂 30 g,混合後於 60℃減壓乾燥(50 mmHg = 6.7 kPa)至恆重,依下列計算式求得檢品中固形物含量(%):

固形物含量(%) =
$$\frac{W_F - W_S}{W_C} \times 100$$

W_F:本品及石英砂乾燥後之重量(g)

Ws:石英砂重量(g)

W_C:檢品重量(g)

(2)固態檢品:取本品 $1.5 \text{ g} \sim 2.0 \text{ g}$,置於空容器,精確稱定,於 60° C 減壓乾燥(50 mmHg = 6.7 kPa)至恆重,依下列計算式求得檢品中固形物含量(%):

固形物含量(%) =
$$\frac{(W_D-W_B)}{(W_S-W_B)} \times 100$$

WD: 檢品及容器乾燥後之重量(g)

WB:空容器重量(g)

Ws:檢品及容器乾燥前之重量(g)

固形物含量(%)應為

第一類:62-77%

第二類:65-72%

第三類:53-83%

第四類:40-75%

5. 色彩強度: 取本品 100 mg,以水定容至 100 mL (0.1%),呈混濁時,需離心,供作檢品溶液。檢品溶液置於 1 cm 石英管,按照吸光度测定法(附錄 A-13),於波長 610 nm 測定吸光度,依下列計算式求得色彩強度:

色彩強度 =
$$\frac{A_{610} \times 100}{S}$$

A₆₁₀: 0.1%檢品溶液於波長 610 nm 之吸光度

S: 固形物含量(%)

色彩強度應為:

第一類: 0.01-0.12

第二類: 0.06-0.10

第三類: 0.08-0.36

第四類: 0.10-0.60

6. 總氮含量: 取適量本品,按照氮測定法(附錄 A-22)測定之。

總氮含量(%)應為:

第一類:最高 0.1%以下

第二類:最高 0.2%以下

第三類:1.3-6.8%

第四類: 0.5-7.5%

7. 總硫含量: 取適量本品(總硫含量小於 2.5%, 取 5 g; 大於 2.5%, 取 1 g),

加氧化鎂 $1\sim3$ g 或同當量之硝酸鎂 $[Mg(NO_3)_2\cdot 6H_2O]$ 6.4~19.2 g、蔗糖 1 g 及硝酸 50 mL,置於坩鍋中,另取相同試藥做空白試驗,置於蒸氣水浴,加熱蒸發至均勻濃漿狀,放入灰化爐逐漸加熱至 525 °C,直至二氧化氮揮散殆盡,靜置冷卻,加水 100 mL 溶解,使用 pH 試紙,以鹽酸調整 pH 至 7,再加鹽酸 2 mL,過濾至燒杯中,加熱至沸騰,再邊攪拌邊緩慢加入氯化鋇試液 20 mL,持續加熱沸騰 5 分鐘,靜置隔夜。以無灰濾紙過濾,以熱水充分清洗濾紙及沉澱物,將洗後之濾紙移至已以 800 °C 熾灼 1 小時之坩堝中,於 105 °C 加熱 1 小時使之乾燥後,先低 溫加熱,再逐漸升溫至 800 °C,並持續加熱 1 小時灰化之。冷卻及精確稱重後,依下列計算式求得檢品之總硫含量(%):

總硫含量(%) =
$$\frac{W_S - W_B}{S} \times 13.74 \times \frac{F}{A_{610}}$$

Ws:檢品熾灼殘留重量(g)

W_B:空白試驗熾灼殘留重量(g)

S:檢品重量(g)

F: 顏色當量, 0.1

A₆₁₀: 0.1 %檢品溶液於波長 610 nm 吸光度

總硫含量(%)應為:

第一類:最高 0.3%以下

第二類:1.3-2.5%

第三類:最高 0.3%以下

第四類: 1.4-10.0%

8. 二氧化硫: 取本品 0.5 g,按照二氧化硫测定法(附錄 A-45)測定之,以顏色當量表示(以本色素之色彩強度為 0.1 吸光單位計算)。

二氧化硫應為:

第一類:-

第二類:最高 0.2%以下

第三類:-

第四類:最高 0.5%以下

9. 銨鹽 氮: 取本品 2 g,加氧化鎂 2 g、水 200 mL 及沸石數粒,置於 800 mL 凯式長頸圓底分解燒瓶中,搖晃混合,迅速接於 kjeldahl 蒸餾裝置,以 0.1 N 硫酸溶液 25.0 mL 為接收液,加熱至沸騰,經蒸餾收集餾出液 100 mL 於接收瓶,以水數 mL 洗玻璃管尖端,洗液併入接收瓶,加甲基紅試液 4~5 滴,以 0.1 N 氫氧化鈉溶液滴定並記錄消耗體積。取另一 800 mL 凯式長頸圓底分解燒瓶,加氧化鎂 2 g、水 200 mL 及沸石數粒,同樣操作,作為空白檢液。依下列計算式求得檢品之銨鹽氦含量(%):

銨鹽氮含量(%) =
$$\frac{(B-S) \times W_N \times 100}{W} \times \frac{F}{A_{610}}$$

B:空白檢液之 0.1 N 氫氧化鈉溶液消耗量(mL)

S:檢品溶液之 0.1 N 氫氧化鈉溶液消耗量(mL)

 $W_N: 0.1 N$ 氫氧化鈉溶液之莫耳當量, 0.0014

W:檢品重量(g)

F: 顏色當量, 0.1

A₆₁₀: 0.1 %檢品溶液於波長 610 nm 之吸光度

銨鹽氮(%)應為:

第一類:-

第二類:-

第三類:最高 0.4%以下

第四類:最高2.8%以下

10.4甲基咪唑 (1)液相層析串聯質譜儀:

(4-Methylimid 離子源:電灑離子化正離子(positive electrospray ionization, azole, 4-MEI): ESI⁺)

層析管: Agilent Pursuit 5 PFP, 5 μm, 內徑 4.6 mm × 15 cm, 或同級品

(2)移動相溶液之調製:

移動相溶液A:取甲酸 1mL,加去離子水使成 1000 mL, 混勻後,經濾膜過濾,取濾液供作移動相 溶液A。

移動相溶液B:取甲酸1 mL,加甲醇使成1000 mL,混勻後, 經濾膜過濾,取濾液供作移動相溶液B。

(3)標準溶液之配製:

取 4-甲基咪唑對照用標準品約 50 mg,精確稱定,以去離子水溶解並定容至 50 mL,作為標準原液,冷藏儲存。臨用時精確量取適量 4-甲基咪唑,以去離子水稀釋至 20 μg/mL,供作標準溶液。

(4)檢液之調製:

取檢品約1g,精確稱定,加去離子水混勻並定容至10mL, 經濾膜過濾後,供作檢品溶液。

(5)基質匹配檢量線製作:

稱取空白檢體各1 g,分別加入標準溶液5~500 μL,以去離子水定容至10 mL,經濾膜過濾後,依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就 4-甲基咪唑定量離子之波峰面積與對應之4-甲基咪唑添加濃度,製作0.01~1 μg/mL基質匹配檢量線。

(6)液相層析串聯質譜測定條件:

移動相溶液:A液與B液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
$0.0 \rightarrow 1.0$	$98 \rightarrow 98$	$2 \rightarrow 2$
$1.0 \rightarrow 2.0$	$98 \rightarrow 0$	$2 \rightarrow 2$
$2.0 \rightarrow 5.0$	$0 \rightarrow 0$	$100 \rightarrow 100$
$5.0 \rightarrow 6.0$	$0 \rightarrow 0$	$100 \rightarrow 2$
$6.0 \rightarrow 10.0$	$98 \rightarrow 98$	$2 \rightarrow 2$

移動相流速:1 mL/min。

注入量:10 μL。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage): 4.5 kV。

氣簾氣體(Curtain gas): 10 psi。 碰撞氣體(Collision gas): 5 psi。

霧化氣體(Gas 1): 50 psi。 加熱氣體(Gas 2): 50 psi。

加熱溫度(Temperature):500℃。

偵測模式:多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)、偵測離子、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)如下表:

分析物	前驅離子(m/z)>	去集簇電壓	碰撞能量
	產物離子(m/z)	(V)	(eV)
4-甲基咪唑	83 > 56*	13	30
	83 > 42	13	44

^{*}定量離子對

(7)鑑別試驗及含量測定:

精確量取檢品溶液及標準溶液各 10 μL,分別注入液相層析 串聯質譜儀中,就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多 重反應偵測相對離子強度^(±)鑑別之,並依下列計算式求得檢 品之 4-甲基咪唑含量(mg/kg,以顏色當量計):

4-甲基咪唑含量(mg/kg) =
$$\frac{C \times V}{M} \times \frac{F}{A_{610}}$$

C:由基質匹配檢量線求得檢品溶液中 4-甲基咪唑之濃度 (μg/mL)

V:檢品定容之體積(mL)

M:取樣分析檢品之重量(g)

F: 顏色當量, 0.1

A₆₁₀: 0.1%檢品溶液於波長 610 nm 之吸光度

註:相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而

得(≦100%)。容許範圍如下:

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

4-甲基咪唑(4-Methylimidazole, 4-MEI,以顏色當量計)應為:

第一類:-第二類:-

第三類:以顏色當量計,最高 200 mg/kg 以下 第四類:以顏色當量計,最高 250 mg/kg 以下 顏色當量:色彩強度以 0.1 為吸光單位表示

tetrahydroxybutylimidazole (THI):

- 11. 2-Acetyl-4- (1)DNPH-HCl 之調製:取 dinitrophenylhydrazine (DNPH) 5 g 及 鹽酸 10 mL, 置於 100 mL 錐形瓶中,輕搖瓶身使顏色由紅 轉黃,加入乙醇 100 mL,於蒸氣水浴加熱至固體溶解。冷 卻至室溫,待鹽酸鹽結晶析出,將其溶液過濾,取濾紙上結 晶之鹽酸鹽,以乙醚清洗,於室溫下風乾後儲存於乾燥器中。
 - (2)DNPH-HCl 試劑之調製:取 DNPH-HCl 0.5 g, 加入 5% 甲醇 之乙二醇二甲醚(aminoethoxy ethanol)溶液 15 mL,混合 30 分鐘,儲存於4℃,可保存三個月。
 - (3)THI-DNPH 標準品之製備:取 DNPH-HCl 0.5 g,依序加入 鹽酸 1 mL 及乙醇 10 mL,於蒸汽水浴加熱溶解,加入 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxylbutylimidazole (THI) 100 mg,於數 分鐘內開始形成結晶,冷卻至室溫,過濾懸浮之 THI-DNPH,加入鹽酸-乙醇溶液(乙醇每5 mL 加入一滴鹽酸) 進行再結晶。儲存於4℃,可保存一年。
 - (4)無羰基甲醇之調製:取甲醇 500 mL, 加入 Girard's Reagent 5 g 及鹽酸 0.2 mL, 迴流兩小時,以 Vigreux 短管柱蒸餾,貯 存於密封瓶中。
 - (5)THI-DNPH 標準溶液之配製:取THI-DNPH 標準品 10 mg, 以無羰基甲醇溶解並定容至 100 mL,取適量此溶液,以甲 醇稀釋 10 倍,作為 THI-DNPH 標準原液,其 THI 濃度(mg/L) 為 THI-DNPH 標準品之 0.47 倍,可穩定儲存於 4℃至少 20 週。取 THI-DNPH 標準原液 1、2、5 mL,分別以無羰基甲 醇定容至 10 mL,供作標準溶液。

(6)組合管柱:

滴液漏斗:100 mL,配有鐵氟龍活栓及14.5 mm 標準磨口 玻璃接頭,作為溶劑儲存槽。

上管柱:玻璃材質,配有內徑 1 mm 毛細管流出口及 14.5 mm 標準磨砂玻璃接頭。內徑 $12.5 \times 150 \text{ mm}$,填充高度最大 9 cm,填充高度 50-60 mm;或是內徑 $10 \times 200 \text{ mm}$,填充高度 80-90 mm。

下管柱:玻璃材質,配有內徑 1 mm 毛細管流出口、鐵氟龍活栓及 14.5 mm 標準磨砂玻璃接頭,內徑 10 mm×175 mm,填充高度 60 mm。

組合:上管柱填充弱陽離子交換樹酯(Amberlite CG AG 50 I, proton form, 100-200 mesh),下管柱填充強陽離子交換樹酯(Dowex 50 AG \times 8, proton form, 100-200 mesh),上下管柱相連並將滴液漏斗接於兩管柱之上方。

- (7)檢品溶液之調製:取本品 200-250 mg,溶於去離子水 3 mL中,倒入組合管柱之上管柱,以去離子水 100 mL流洗後,取下上管柱,再以 0.5N 鹽酸溶液流洗下管柱,棄前 10 mL洗出液,續收集洗出液 35 mL,於 40℃減壓濃縮(15 mmHg)至乾。殘留物以無羰基甲醇 250 μL 溶解,加入 DNPH-HCl試劑 250 μL,置於有瓶塞之樣品瓶中,於室溫下可存放 5小時
- (8)高效液相層析測定條件:

移動相溶液:甲醇:0.1 M 磷酸溶液(1:1, v/v)。

紫外光檢出器:波長 385 nm。

管柱:內徑 4 μm × 250 mm, 10-1m LiChrosorb RP-8, 或 同級品。

注入量:5μL。

移動相流速:2 mL/min。

(9)含量測定:精確量取標準溶液及檢品溶液 5 μL,分別注入 高效液相層析儀中,就檢品溶液與標準溶液之滯留時間比較 鑑別之,並依下列計算式求得檢品中 THI 之含量(mg/kg,以 顏色當量計):

THI 含量(mg/kg) =
$$\frac{C \times V}{M} \times \frac{F}{A_{610}}$$

C:由標準曲線求得檢品溶液中THI之濃度(µg/mL)

V:檢品定容之體積(mL)

M:取樣分析檢品之重量(g)

F: 顏色當量, 0.1

A₆₁₀: 0.1%檢品溶液於波長 610 nm 之吸光度 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxylbutylimidazole (THI,以顏色當量計) 應為: 第一類:-第二類:-

第三類:以顏色當量計,最高25 mg/kg以下

第四類:-

顏色當量:色彩強度以 0.1 吸光單位表示

12. 砷 : 取本品 1.0 g,精確稱定,按照砷檢查第 II-2 法(附錄 A-8)檢查

之,其所含砷(以 As 計)應在 1 mg/kg 以下。

13. 鉛 : 取本品 1.0 g,精確稱定,按照鉛試驗第 I 法(附錄 A-24)試驗之,

其所含鉛(Pb)應在2 mg/kg 以下。

參考文獻:

1. JECFA. 2011. Caramel colours. FAO. JECFA Monographs 11.

2. United States Pharmacopeia Convention. 2012. Caramel Color. Food Chemicals Codex. 8th ed. pp. 202–208. United States Pharmacopeia Convention. Rockville, MD, U.S.A.