

104年度食品檢驗業務推廣研討會

藥求安全 食在安心

食品中著色劑之檢驗方法

報告人: 郭景豪



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

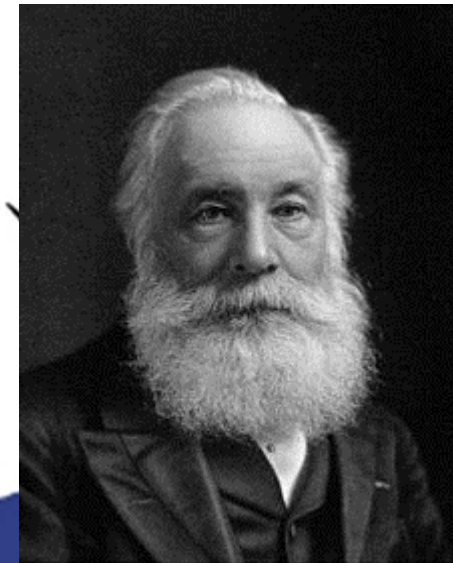
歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

- 考古資料顯示，染色技術於印度和中東已有超過五千年歷史。當時的染料從動植物或礦物質而來，甚少經過處理。大多數染料來自植物界（如植物的根、莓類、樹皮、葉子和木料等），但此類染料甚少被廣泛用於商業上。
- 第一種人造的有機染料苯胺紫（mauveine）由威廉·珀金（William Henry Perkin）於一八五六年發明。其後共有上千種染料被發明出來。

FDA



- 威廉·亨利·珀金爵士，FRS（
Sir William Henry Perkin，1838
年3月12日－1907年7月14日）
，英國化學家。他在18歲發現
了首個苯胺染料——苯胺紫。



Yours sincerely
W. H. Perkin

FDA

- 威廉·亨利·珀金爵士，Sir William Henry Perkin，英國化學家。他在18歲(西元1856年)發現了首個苯胺染料—苯胺紫。
- 在1856年的復活節，珀金在自己的實驗室內進行有關奎寧的研究。他就在此時發現了苯胺紫。很快他便發現這種物質在光和洗擦都不易脫色，適合當染料。八月，他取得了專利權。當時的染料都很昂貴，製造過程勞動密集；在正值工業革命中的英國，這個新產品輕易成功了。
- 以後珀金繼續進行有機化學研究，發現更多的人工染料。他發現了人工香水香豆素的合成方法，香豆酸的準備方法被後人稱為珀金反應。1869年發現了茜素的商業製法，可惜德國公司BASF剛好在前一天申請了該製法的專利。1874年他家財萬貫，賣掉工廠並退休。
- 1906年，化學工業界最高榮譽的珀金獎章成立，以紀念發現苯胺紫五十週年，現由美國化學工業學會每年頒發。

- 食品著色劑，又稱食用色素，使食品著色，從而改善食品色調和色澤的食品添加劑。
- 依來源分類為植物染料與動物染料；依顏色分類紫色、紅色、黃色、藍色、綠色和黑色等；依化學結構分類有類胡蘿蔔素類（carotenoids）、蒽醌類（anthraquinones）、萘醌類（naphthoquinone）、類黃酮類（flavonoids）、薑黃素類（curcumin）、靛藍類（indigo）、葉綠素類chlorophyll等。

FDA

食品添加物的使用原則：

藥求安全 食在安心

近年食安事件	非法使用
假冒橄欖油	銅葉綠素
豆干	二甲基黃、二乙基黃、皂黃
辣椒粉	蘇丹紅、羅丹明B、鹼性橙

■ ■ ■ A

- **天然色素**：天然染料是指從植物、動物或礦產資源中獲得的、很少或沒有經過化學加工的染料。

使用於食品中之法規標準為「**食用天然色素衛生標準**」。

- **人工合成色素**：指用人工化學合成方法所制得的有機色素。

使用於食品中之法規標準為「**食品添加物使用範圍及限量暨規格標準**」。

天然色素種類及特性：

在安心

色 素 類 別	化合物 數目	來 源	顏 色	溶解度	安定性
葉綠素 (chlorophylls)	25	植物	綠、褐色	有機溶劑	熱敏感
血色素 (heme pigments)	6	動物	紅、褐色	水溶性	熱敏感
類胡蘿蔔素 (carotenoids)	450	植物、 動物	黃、紅色	脂溶性	熱穩定， 易氧化
花青素 (anthocyanins)	150	植物	紅、紫藍色	水溶性	pH、金屬敏感 對熱不穩定
類黃酮素 (flavonoids)	800	大部分 植物	無色、黃色	水溶性	對熱很安定
無色花青素 (proanthocyanidins)	20	植物	無色	水溶性	熱穩定性
單寧 (tannins)	20	植物	無色、黃色	水溶性	熱穩定性
核黃素、維生素 B ₂ (riboflavin)	1	植物、 動物	淺綠、 黃色	水溶性	對熱、pH 安定

總計超過1500種！



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/>

人工合成色素

藥求安全 食在安心

- Acid Dyes (799)
- Azoic Dyes (108)
- banned dyes (1)
- Basic Dyes (183)
- Direct Dyes (769)
- Disperse Dyes (548)
- Food Dyes (71)
- Harmful aromatic amines (1)
- Market Research Report (4)
- Mordant Dyes (253)
- Reactive Dyes (332)
- Solvent Dyes (446)
- Sulphur Dyes (222)
- Vat Dyes (261)

總計3998種!



資料來源：<http://www.worlddyevariety.com/>

食品衛生檢驗中央地方分工項目表(103.09.29修訂)

藥求安全 食在安心

分工項目		直轄市政府衛生局	縣市衛生局	中央主管機關	專責衛生局
食品添加物	防腐劑(酸類 5 項)	V	V		中-台中市、雲林縣
	防腐劑(酯類 7 項)	V	V		
	抗氧化劑(5 項)	V	V		北-台北市 中-雲林縣 南-台東縣
	人工甘味劑(4 項)	V	V		中-彰化縣
	人工甘味劑-阿斯巴甜	V	V	V	
	人工甘味劑-甜菊萃			V	
	人工甘味劑-索馬甜			V	
	著色劑(規定內 8 項)	V	V		中-彰化縣
	著色劑(規定外 16 項)	V	V		中-彰化縣
	香料			V	
	殺菌劑	V	V		

規定內8項著色劑：

食用藍色1號、食用紅色7號、食用藍色2號、食用紅色6號、
食用黃色5號、食用黃色4號、食用綠色3號、食用紅色40號

規定外16項著色劑：

Amaranth、Naphthol Yellow S、Black BN、
Scarlet GN、Quinoline Yellow、Azo Rubine、Patent
blue Violet、Acid Red、Ponceau SX、Orange II、
Metanil Yellow、Phioxine、Rose Bengale、
Rhodamine B、Auramine、Malachite Green

FDA

101 年 11 月 19 日署授食字第 1011903531 號公告
102 年 9 月 6 日部授食字第 1021950329 號公告修正

食品中著色劑之檢驗方法 Method of Test for Colors in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中著色劑之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及毛線染色後，以濾紙層析 (paper chromatograph, PC)、薄層層析 (thin layer chromatograph, TLC) 及高效液相層析儀 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 分析之方法。
 - 2.1. 檢體之調製：
 - 2.1.1. 試藥：乙醇、醋酸、乙醚、石油醚、氨水(25%)及氯化鈉均採用試藥級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 MΩ · cm 以



檢測項目

藥求安全 食在安心

著色劑(英文)	台灣	大陸 (別名)	國際 (C.I. No.)	美國 (FD&C No.)	歐盟 (E No.)
Brilliant Blue FCF	食用藍色1號	亮藍	42090	Blue No.1	E133
Erythrosine (Eosine)	食用紅色7號	赤蘚紅 (櫻桃紅)	45430	Red No.3	E127
Indigo Carmine (Indigotine)	食用藍色2號	靛藍	73015	Blue No.2	E132
Cochineal red A (Ponceau 4R , New Coccin)	食用紅色6號	胭脂紅 (麗春紅)	16255	禁用	E124
Sunset Yellow FCF	食用黃色5號	日落黃	15985	Yellow No.6	E110
Tartrazine	食用黃色4號	檸檬黃 (酒石黃)	19140	Yellow No.5	E102
Fast Green FCF	食用綠色3號	堅牢綠	42053	Green No.3	E143
Allura Red AC	食用紅色40號	誘惑紅	16035	Red No.40	E129



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/>

檢液之萃取方式

藥求安全 食在安心

依檢體型態及特性使用下列方法

1.液態檢體

水溶性：試樣20~200 mL，加1~3倍量的蒸餾水

酒精性檢體：沸水浴加熱蒸發後，再加水至原容量或稀釋

2.固形食品

試樣20~200克，磨碎再依檢體類別調製。

a.糖果；b.醃漬類蔬菜；c.果凍、果醬、味噌、餡等食品；

d.巧克力、可可、奶油等製品；e.穀類製品；f.口香糖類。

3.水產及畜產食品

試樣20~200克，磨碎再依固形食品之d.步驟調製檢液

a.糖果：

加5倍量熱水溶解。

b.醃漬類蔬菜：

4-5倍量80%乙醇，放置2-3小時，完全分離液體後，加1%氨水之70%乙醇反覆浸出，得到萃取液，以6%醋酸中和，經煮沸使氨蒸發後，做為檢液，若檢體仍著色時，再用1%醋酸之70%乙醇，以10%氨水中和，經煮沸使氨蒸發後，加水至原容量作為檢體。

c.果凍、果醬、味噌、餡等食品：

檢體加入約3-5倍量之熱水，混合後以玻璃棉過濾，取濾液作為試驗溶液，若仍有色素未抽出來，依b法調製

d.巧克力、可可、奶油等製品：

以乙醚先脫脂，檢體上乙醚自然揮發後，再依b法調製。

e.穀類製品：

檢體加入約5倍量之80%乙醇，放置24小時浸出液於水浴上蒸發濃縮至原容量1/5再加1/4容量之25%NaCl及1%氨水使呈鹼性移入分液漏斗，用同量的石油醚脫脂，下層液以6%醋酸中和後作為試驗溶液，上層液若有顏色應以6%醋酸萃取，取出醋酸中和後，併入前項試驗液。

f.口香糖類：

加5倍量熱水，冷卻過濾後做為試驗溶液，若仍有殘渣依b法。

毛線染色分離

藥求安全 食在安心

- 毛線處理：

脫脂：索式萃取器以乙醚將毛線脫脂之後，風乾並以水清洗後再風乾。

脫螢光物：以強氨水浸泡置45℃水浴30-60分鐘取出毛線，再置入稀氨水(1 氨水：99水)中充分攪拌再用溫水、冷水沖洗。後再風乾。

- 檢液之調製原理：

1. 酸性，加熱下脫脂毛線染色。
2. 鹼性，加熱下脫脂毛線脫色。
3. 著色劑對纖維具有附著能力。附著之著色劑不易被清水沖洗。藉以去除檢體基質干擾。

檢液之調製：

依著色濃度取試驗溶液 5~20 mL，置於燒杯中，加 1N 醋酸溶液 1 mL 使呈酸性後，投入毛線 0.1 g，攪拌後置於水浴上加熱 30 分鐘。取出已著色之毛線，以水充分沖洗後，將毛線移入另一燒杯中，加 1% 氨水溶液 5 mL，於水浴上加熱 30 分鐘，使色素溶出後，去除毛線，加入 10% 醋酸溶液 2 mL，使呈酸性，再投入新毛線 0.1 g 攪拌，置於水浴上加熱 30 分鐘，毛線著色時，即有酸性色素存在。取出著色毛線，依前述操作加入 1% 氨水溶液，使色素溶出，並濃縮至 0.5 mL，供作檢液。

- 濾紙層析法（paper chromatography）

1944年Consden等人所創之分析法，以層析用濾紙為固定相，展開溶媒為移動相，利用各分子對兩種物質相對親合力（affinity）的不同，也就是利用物質對固定相及移動相分配係數之差異，而使物質分離之方法。

經羊毛絲染色區分之色素，在濾紙分離後，經與標準溶液比對鑑別之。

FDA

- 薄層層析法（thin-layer chromatography，TLC）則是把固定相如矽膠（Silica gel）、纖維素（cellulose）或含硫酸鈣黏著劑的矽藻土（Keiselguhr G）等塗在玻璃、塑膠片或鋁箔板上。
- 使用薄層色層分析法可增快分析的速度以節省時間，可將各分離之成份回收使用，用於進一步之定性與定量。

- 高效液相層析 (HPLC)
- 高效液相層析是利用管柱層析法，經儀器運用的精密分離技術，於1960年代發展應用。高效液相層析早先稱為高壓液相層析(high pressure liquid chromatography；HPLC)，－管柱液相層析的技術由一般常壓下的管柱層析演變為高壓管柱層析，－在1970年代以後，因HPLC的分離效果更快、解析度更高、檢測器的靈敏度更提高，且具有高效的分離性能，因而延用此名稱至今。

濾紙層析法

藥求安全 食在安心

- 展開溶媒

(1) 正丁醇：乙醇：0.5N 氨水溶液(6:2:3, v/v/v)。

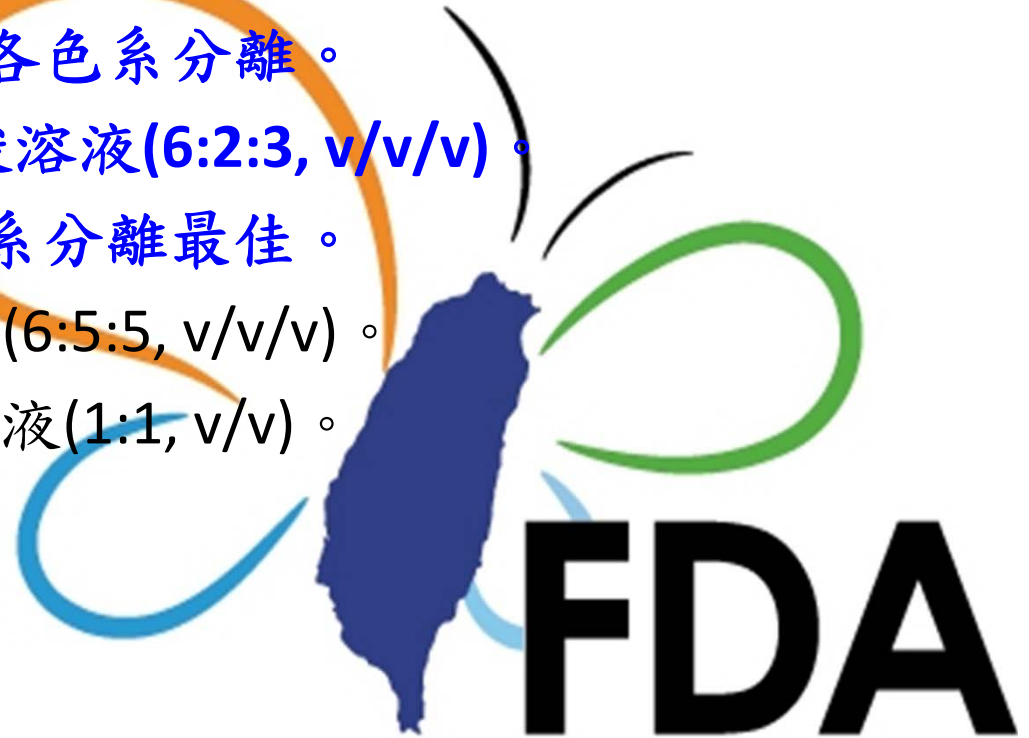
Rf值在0.07~0.94之間，適用各色系分離。

(2) 正丁醇：乙醇：0.5N 醋酸溶液(6:2:3, v/v/v)。

Rf值在0.02~0.97之間，黃色系分離最佳。

(3) 丙酮：異戊醇：去離子水(6:5:5, v/v/v)。

(4) 25%乙醇溶液：5%氨水溶液(1:1, v/v)。



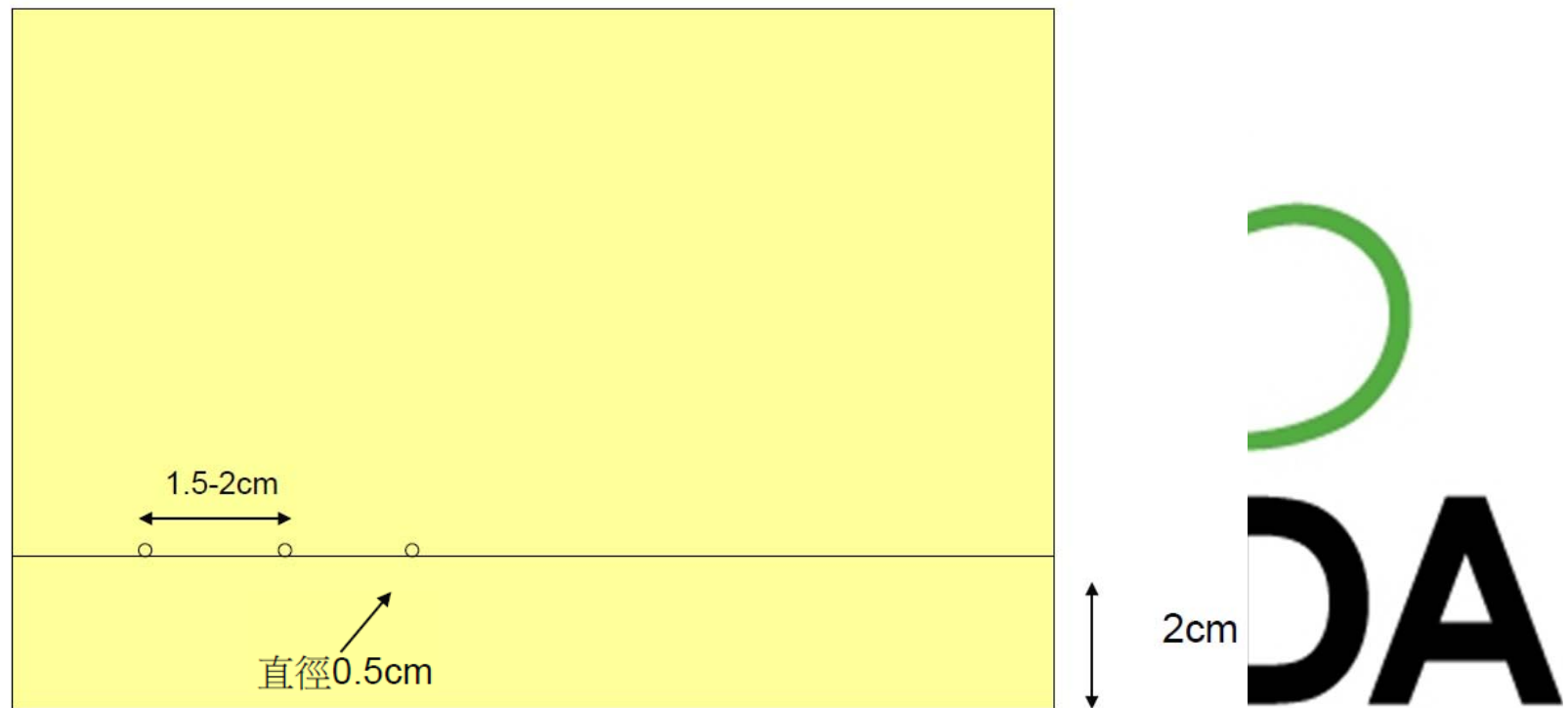
濾紙層析法

藥求安全 食在安心

1. 點樣

1-1. 濾紙下端2 cm處畫一直線並每隔1.5-2 cm做上標誌。

1-2. 將檢液及著色劑標準液分別點於標誌上(點樣直徑不超過0.5 cm)



濾紙層析法

藥求安全 食在安心

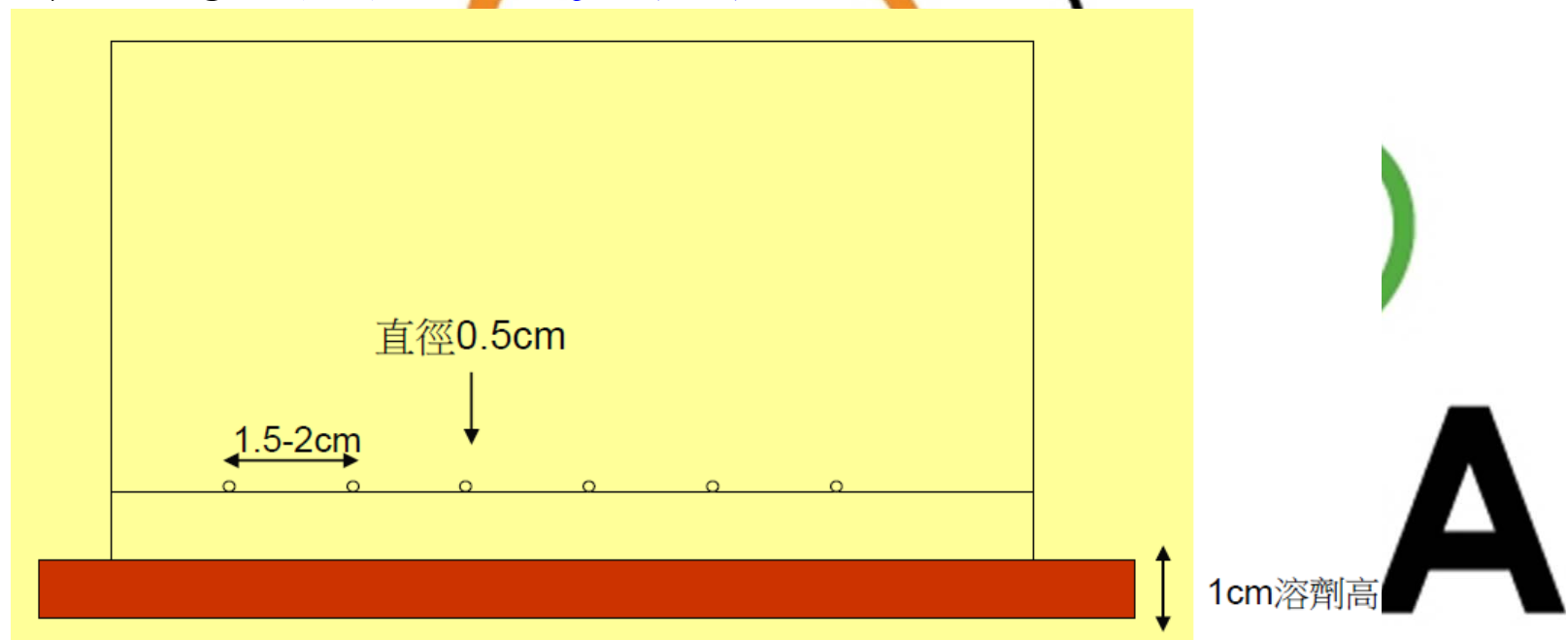
3. 展開：

將展開溶媒沿壁倒入展開槽中。

展開槽充滿展開溶媒蒸氣(以濾紙測試溶媒不再上升即可)。

將點樣經風乾之濾紙垂直懸掛在展開槽內，不得碰到槽壁。

使展開溶媒浸沒濾紙下端約1 cm處，密閉之。



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

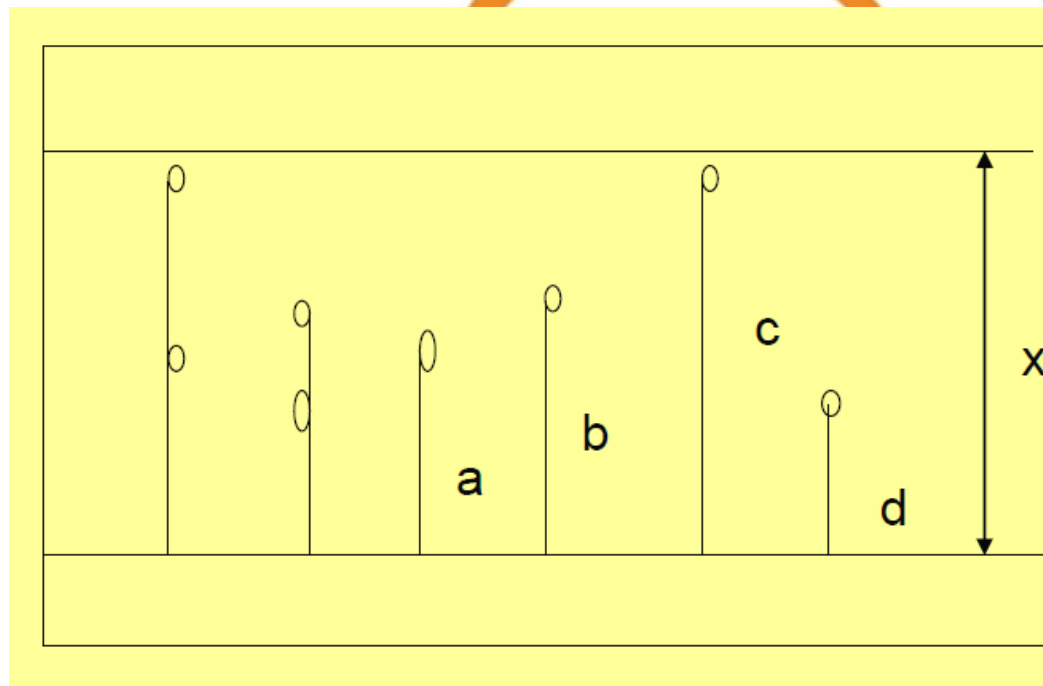
歡迎至本署網站查詢更多資訊 <http://www.fda.gov.tw/>

濾紙層析法

藥求安全 食在安心

4.取出風乾

待溶媒上升至約13~25cm高度取出風乾。



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/>

濾紙層析法

藥求安全 食在安心

鑑別試驗：

1. 依檢液上昇之斑點的位置和顏色與標準溶液比較鑑別之。
2. 必要時得於紫外燈照射下觀察，作進一步鑑定。



薄層層析法

藥求安全 食在安心

薄層色層分析 (TLC)

矽膠上有具極性的Si-O鍵與移動相內具有極性的物質間最大的作用力為偶極—偶極力(dipole-dipole interaction，極性分子因電荷分佈不均使產生偶極矩，當兩個極性分子靠近時，會造成電性的吸引)，因此當移動相中極性越大的分子與固定相間的偶極力越大，越容易被吸附住；反之極性越小的分子與矽膠間的作用力越小，越容易隨著展開劑移動到較遠的地方。

FDA

薄層層析法

藥求安全 食在安心

- 展開溶媒：

- (1) 醋酸乙酯：甲醇：氨水(4:5:1 或3:1:1, v/v/v)。
- (2) 正戊醇：乙醇：氨水(10:10:1, v/v/v)。
- (3) 丁酮：2-甲氧基乙醇：乙醇：氨水(20:15:12:1, v/v/v/v)。
- (4) 甲醇：乙醇：異戊醇：氨水(15:10:5:3, v/v/v/v)。



薄層層析法

藥求安全 食在安心

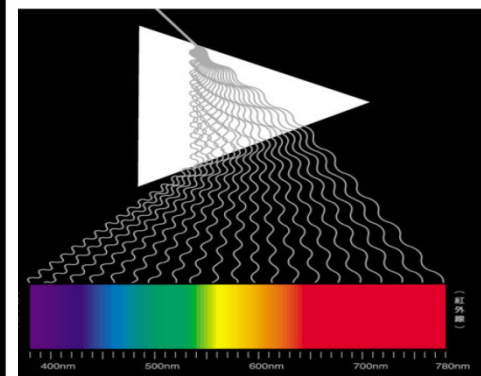
- 沿矽膠薄層板下端2 cm 之橫向，每隔1 cm 分別點上直徑約0.3 cm 之檢液及標準溶液，並風乾之。而後置入盛有展開溶媒之展開槽內，使展開溶媒浸沒薄層板下端0.5~1 cm，展開高度達8~15 cm 後取出風乾，依檢液上昇之斑點的位置及顏色與標準溶液比較鑑別之，必要時得於紫外燈照射下觀察，作進一步鑑定。



液相層析法

藥求安全 食在安心

波 長(nm)	光 的 顏 色	試樣溶液的顏色*
380~420	紫色	黃綠色
420~440	紫藍色	黃色
440~470	藍色	橙色
470~500	藍綠色	紅色
500~520	綠色	紫紅色
520~550	黃綠色	紫色
550~580	黃色	紫藍色
580~620	橙色	藍色
620~680	紅色	藍綠色
680~780	紫紅色	綠色



摘自現代色彩學 林昆範 柯凱仁



2.2.3.1. 裝置：

2.2.3.1.1. 高效液相層析儀：

2.2.3.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器
(photodiode array detector)。

2.2.3.1.1.2. 層析管：Atlantis T3，3 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm，或同級品。

2.2.3.5. 移動相溶液之調製：

2.2.3.5.1. 移動相溶液A：

稱取磷酸二氫銨1.15 g 及磷酸氫二銨1.32 g，以去離子水溶解使成1000 mL，以1M 磷酸溶液調整pH 值至6.0，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2.2.3.5.2. 移動相溶液B：甲醇

高效液相層析測定條件：

光二極體陣列檢測器：波長254 nm。

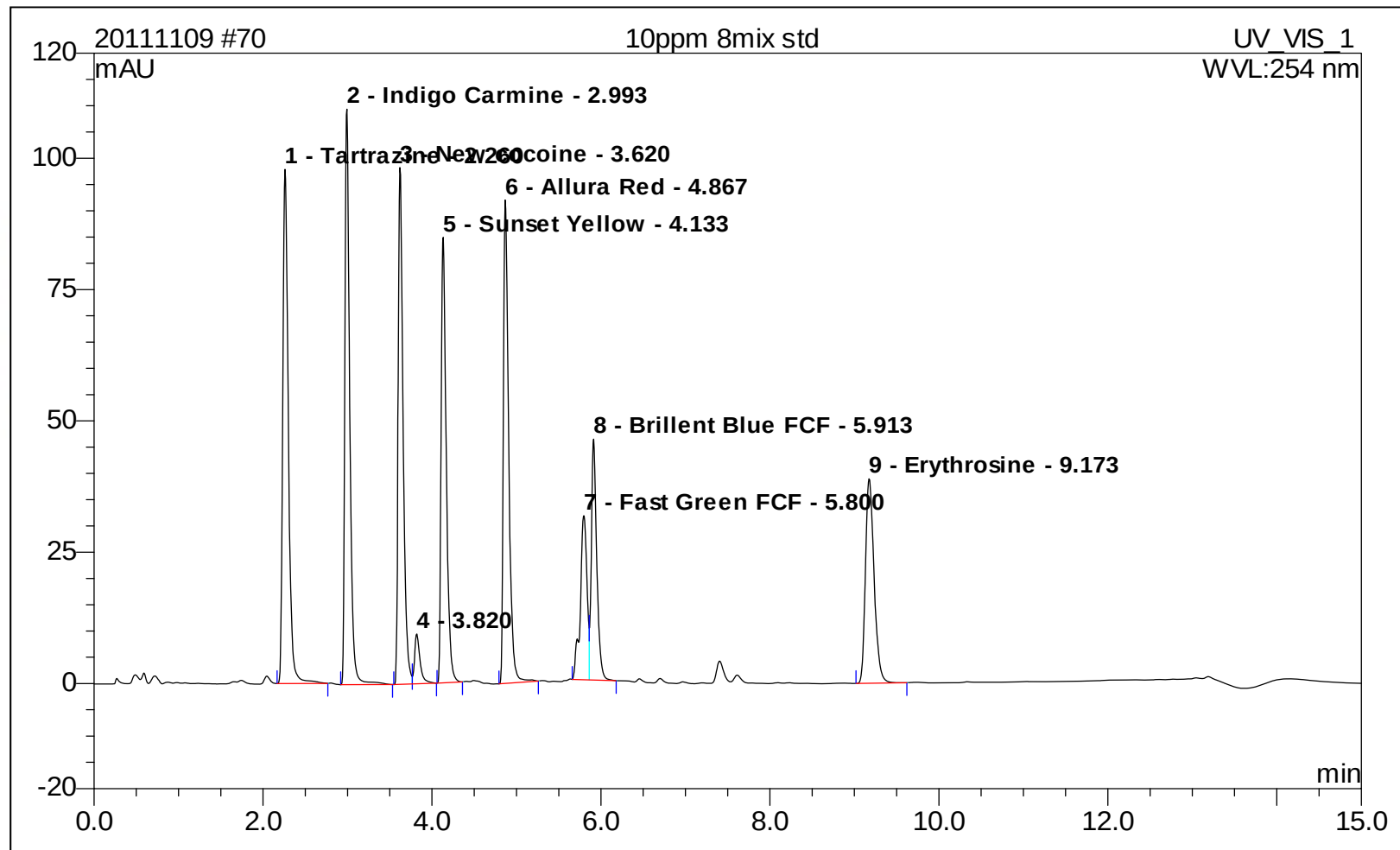
層析管：Atlantis T3，3 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm。

層析管溫度：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

注射量：10 μL 。

時間(min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 4	90 $\rightarrow$ 50	10 $\rightarrow$ 50
4 $\rightarrow$ 8	50 $\rightarrow$ 40	50 $\rightarrow$ 60
8 $\rightarrow$ 12	40 $\rightarrow$ 20	60 $\rightarrow$ 80
12 $\rightarrow$ 12.1	20 $\rightarrow$ 90	80 $\rightarrow$ 10
12.1 $\rightarrow$ 15	90 $\rightarrow$ 90	10 $\rightarrow$ 10

移動相流速：0.7 mL/min。



圖、8項規定內著色劑之HPLC圖譜

Column : Inertsil ODS-3V 5um 150X4.6mm

Solvent : A : (10mM CH₃COONH₄/CH₃CN) = (50 / 50)

B : (10mM CH₃COONH₄/CH₃CN) = (95 / 5)

Gradient :

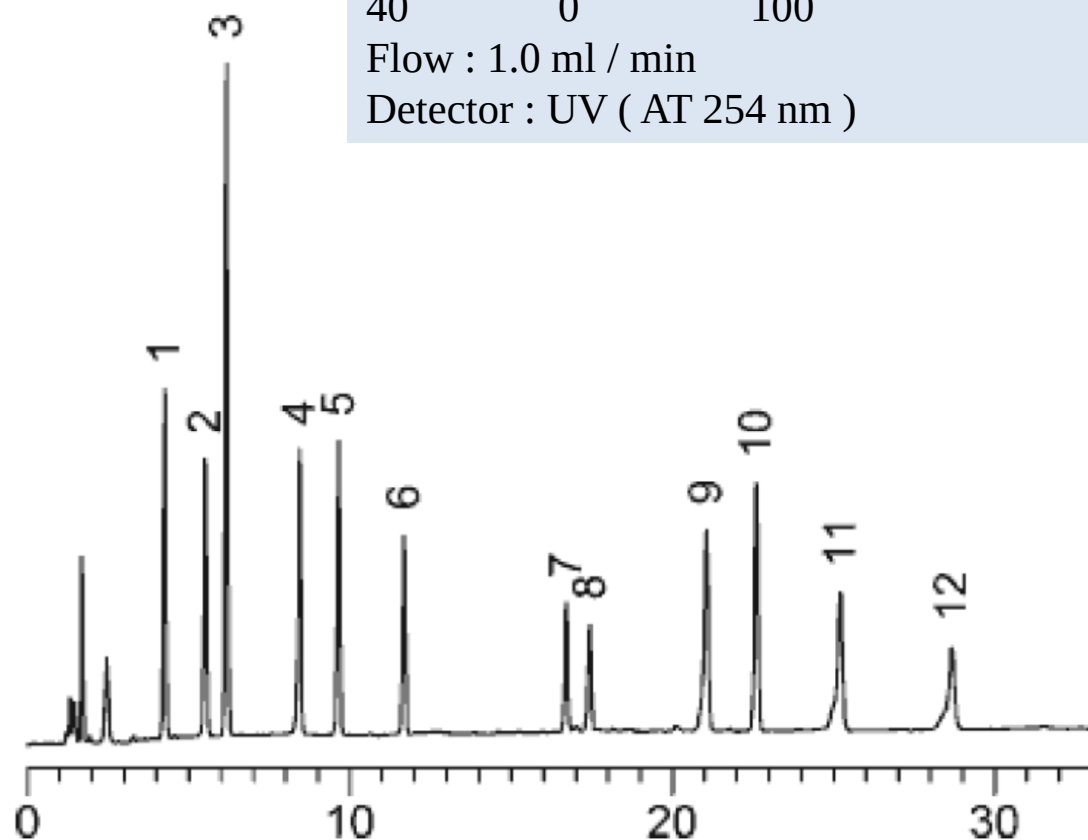
Time(min)	A(%)	B(%)
-----------	------	------

0	100	0
---	-----	---

40	0	100
----	---	-----

Flow : 1.0 ml / min

Detector : UV (AT 254 nm)



1. Tartrazine

2. Amaranth

3. Indigocarmine

4. New coccine

5. Sunset yellow FCF

6. Allura red AC

7. Fast green FCF

8. Brilliant blue FCF

9. Erythrosine

10. Acid red

11. Phloxine

12. Rose bengal



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/>

液相層析串聯質譜儀確認

藥求安全 食在安心

附表、8 項著色劑之液相層析串聯質譜儀多重反應偵測模式參數

分析物	電灑離子化模式	定量離子對			定性離子對		
		前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	去簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	去簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
食用紅色六號	ESI ⁻	268 > 206	-25	-18	206 > 80	-35	-40
食用紅色七號	ESI ⁻	834 > 127	-80	-84	834 > 227	-80	-91
食用黃色四號	ESI ⁻	244 > 80	-21	-62	244 > 198	-21	-20
食用黃色五號	ESI ⁻	407 > 207	-57	-41	407 > 80	-57	-108
食用藍色一號	ESI ⁻	373 > 170	-45	-42	373 > 80	-45	-92
食用藍色二號	ESI ⁻	226 > 198	-42	-27	226 > 105	-42	-53
食用綠色三號	ESI ⁻	381 > 170	-40	-38	381 > 341	-40	-25
食用紅色四十號	ESI ⁻	225 > 136	-32	-34	225 > 80	-32	-59



高效液相層析儀分析條件

Column：Acclaim® PolarAdvantage C16 3 μ m 4.6*150 mm

移動相溶液A：20 mM醋酸銨及1%醋酸水溶液

移動相溶液B：乙腈

時間(min)	A(%)	B(%)
0.0→3.0	98→98	2→2
3.0→8.0	98→50	2→50
8.0→15.0	50→0	50→100
15.0→15.5	0→98	100→2
15.5→20.0	98→98	2→2

移動相流速：1 mL/min。

層析管柱溫度：30 °C。

取樣分析量：10 μ L。

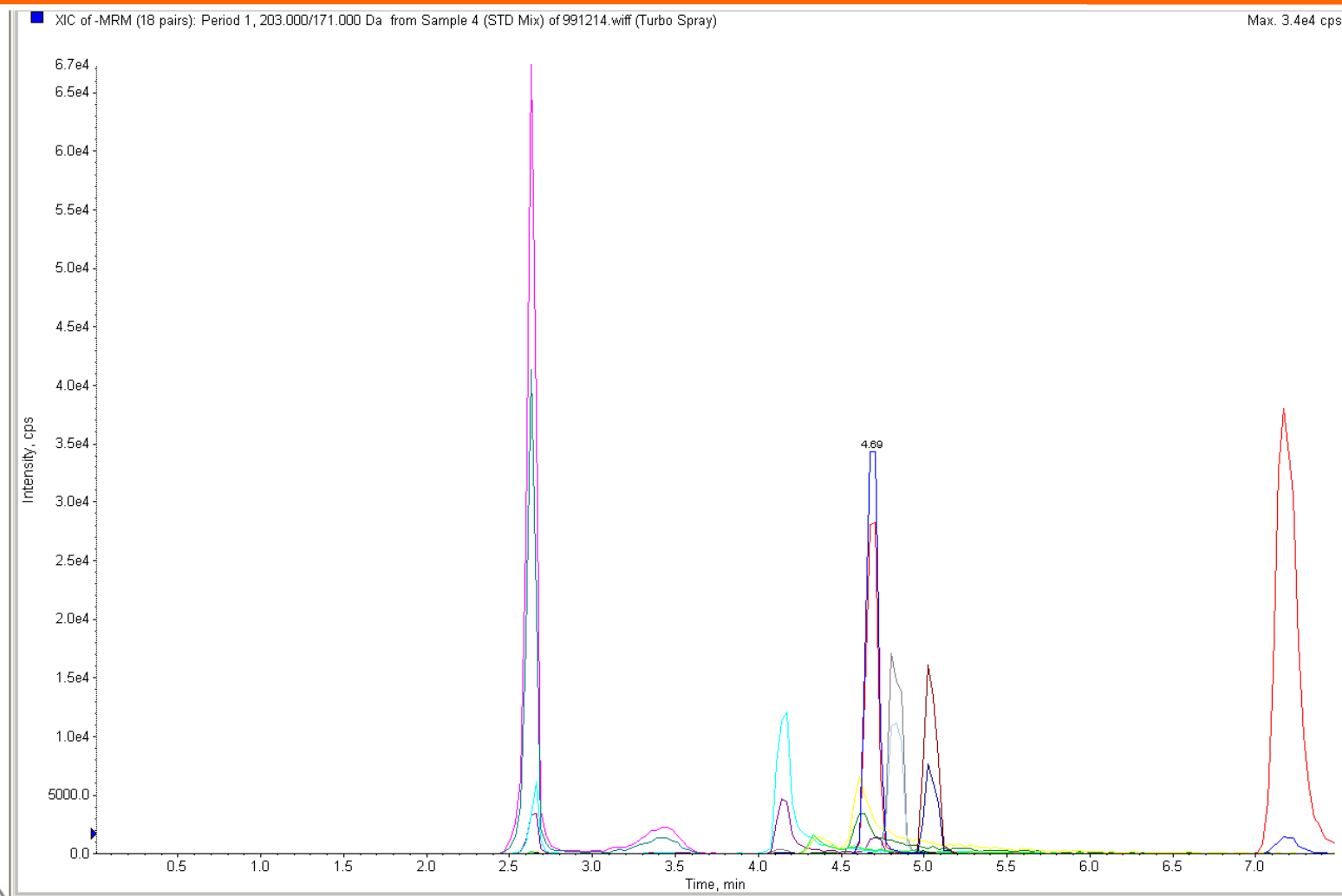


LC/MS/MS條件

藥求安全 食在安心

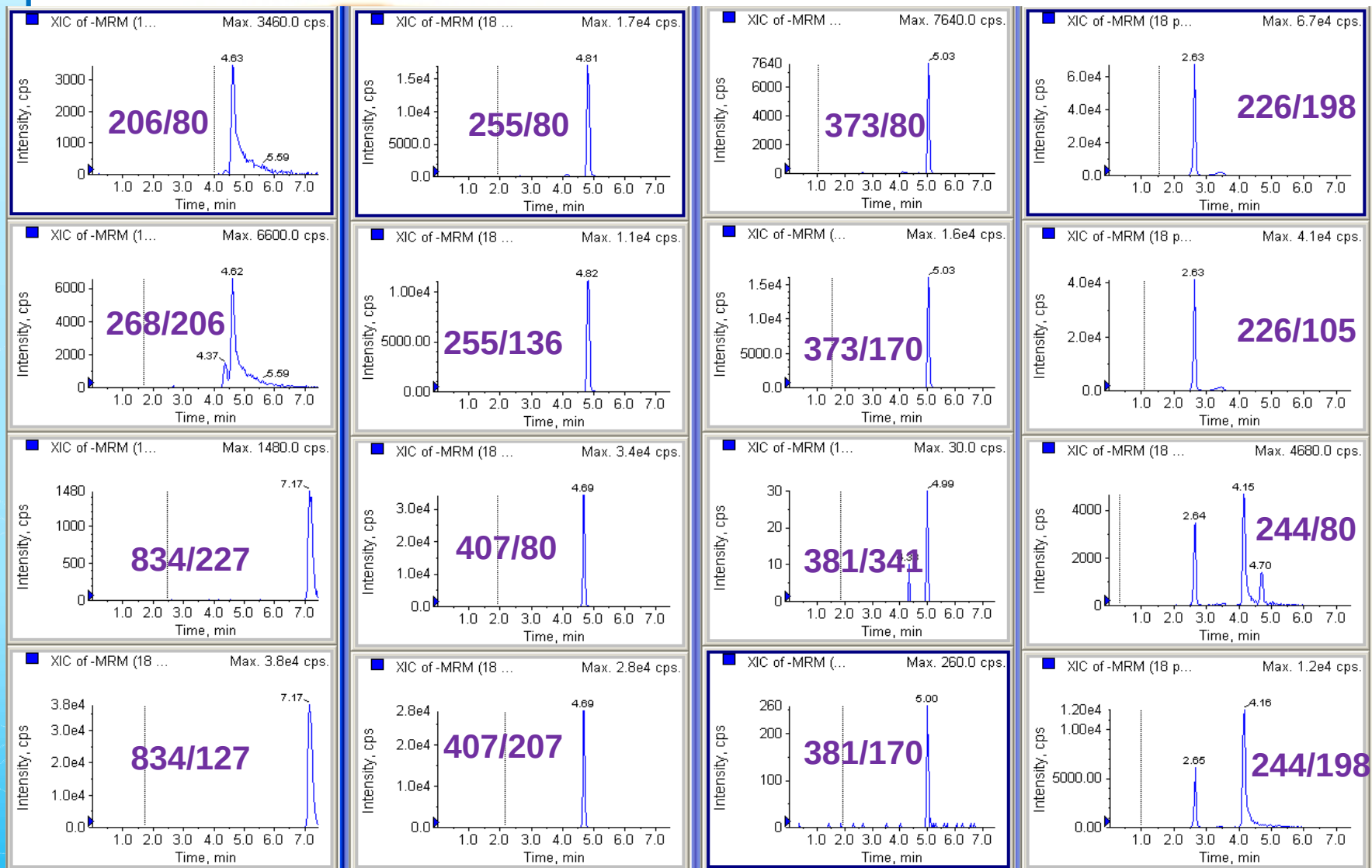
	MS instrument	Condition
加熱氣體	Turbo gas(Gas 2)	50 psi
氣簾氣體	Curtain gas(CUR)	15 psi
碰撞氣體	Collision gas(CAD)	5 psi
溫度	Source Temperature(TEP)	550°C
霧化氣體	Nebulizer gas(Gas 1)	50 psi
真空介面加熱	Interface heater	on
離子噴灑電壓	IonSpray Voltage (IS)	450 V
駐留時間	Dwell time	80 ms

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/>



中文品名	英文品名	使用食品範圍 及限量	建議檢驗方法
規定外16項 著色劑		不得使用	食品中規定外煤焦色素分離鑑別方法之探討
蘇丹色素	Sudan Dyes	不得使用	食品中蘇丹色素之檢驗方法 (鹹蛋蛋黃中)
鹼性橙 羅丹明B	chrysoidine G Rhodamine B	不得使用	辣椒粉中鹼性橙及羅丹明B檢驗方法
二甲基黃 二乙基黃	Dimethyl Yellow Diethyl Yellow	不得使用	食品中二甲基黃及二乙基黃之鑑別方法



規定外色素檢驗方法

藥求安全 食在安心

藥物食品檢驗局調查研究年報9:217-228,1991
Ann. Rept. NLFD Taiwan R.O.C. 9:217-228,1991

藥檢局年報,1991

食品中規定外煤焦色素分離

• 濾紙層析法 鑑別方法之探討

• 薄層層析法 程俊龍 黃春子 蘇淑珠 李樹其

第 四 組

• 高效液相層析法 摘 要

食品中規定外煤焦色素係指具有強毒性或致癌性,因安全顧慮公告刪除者(如Amaranth)及與我國規定不符之輸入國法定煤焦色素(如AcidRed)。本研究針對八種規定內煤焦色素及Amaranth等十六種規定外煤焦色素,依據中國國家標準食品中著色劑之檢驗方法,將檢體中之色素



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/>



檢液製備

加水溶解



醋酸酸性下



脫脂毛線染色



加10%氨水加熱脫色



濃縮

檢測項目

indigo Carmine

Tartrazine

Amaranth

sunset yellow FCF

Allura red AC

New coccin

Naphthol Yellow S

Black BN

Fast green FCF

brilliant blue FCF

Scarlet GN

Quinoline Yellow

Azo rubine

Patent blue V

Acid Red

Ponceau SX

Orange II

Metanil Yellow

Erythrosine

Phloxine

Rose Bengale

rhodamine B

Auramine

Malachite Green

FDA

PC, TLC及HPLC三種方法之檢出限量 (ng)

色系	No	色素名稱	PC *	TLC *	HPLC
紅色系	1	New Coccin	100	50	3
	2	Erythrosine	100	50	15
	3	Allura Red AC	100	50	2
	4	Amaranth	100	50	2
	5	Scarlet GN	100	50	5
	6	Rose Bengale	100	50	15
	7	Phloxine	100	50	15
	8	Acid Red	50	50	2
	9	Azo Rubine	100	50	5
	10	Ponceau SX	100	50	5
黃色系	11	Tartrazine	100	100	2
	12	Sunset Yellow FCF	100	50	2
	13	Quinoline Yellow	100	100	3
	14	Naphthol Yellow S	100	100	2
	15	Orange II	100	50	3
	16	Metanil Yellow	100	50	5
藍色系	17	Fast Green FCF	100	50	5
	18	Brilliant Blue FCF	100	50	10
	19	Indigo Carmine	100	50	2
	20	Patent Blue Violet	100	50	5
	21	Black BN	100	50	3
鹽基性	22	Rhodamine B	50	50	1
	23	Auramine	1000	500	50
	24	Malachite Green	100	50	7

在安心

A



UV detector 254nm

column : lichroCART RP-18 126*4 mm

A : 5mM terabutyl ammonium phosphate

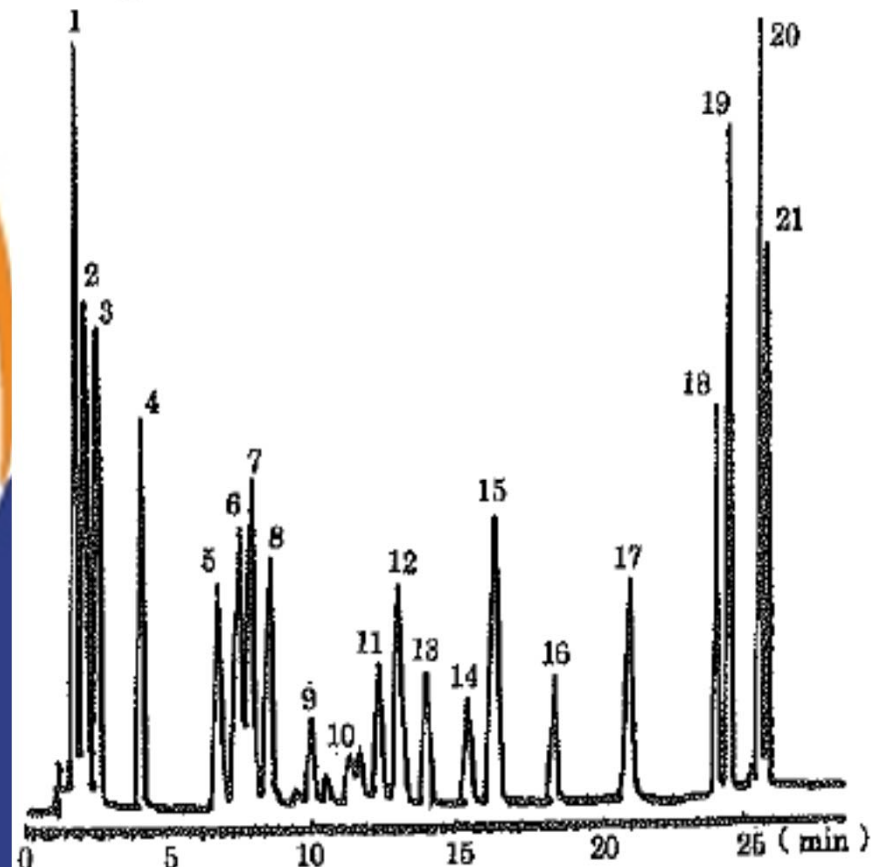
B: MeOH

Gradient :

Time(min)	A(%)	B(%)
0	55	45
16	41	59
18	41	59
22	0	100

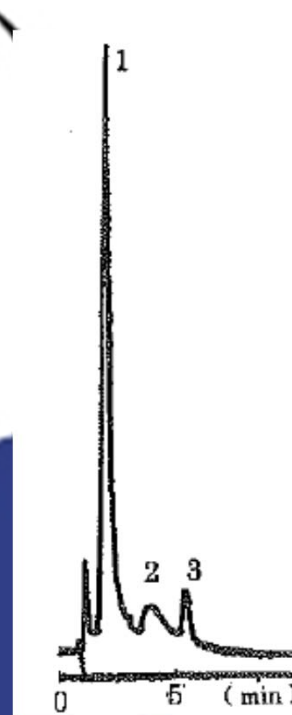
flow: 1 mL/min

- | | |
|---------------------|-----------------------|
| 1.Indigo Carmine | 2.Tartrazine |
| 3.Amaranth | 4.Sunset Yellow FCF |
| 5.Allura Red AC | 6.New Coccin |
| 7.Naphthol Yellow S | 8.Black BN |
| 9.Fast Green FCF | 10.Brilliant Blue FCF |
| 11.Scarlet GN | 12.Quinoline Yellow |
| 13.Azo Rubine | 14.Patent Blue V |
| 15.Acid Red | 16.Ponceau SX |
| 17.Orange II | 18.Metanyl Yellow |
| 19.Erythrosine | 20.Phloxine |
| 21.Rose Bengale | |



圖一 二十一種酸性煤焦色素之層析圖譜

UV detector 254nm
column : lichroCART RP-18 125*4 mm
5mM terabutyl ammonium
phosphate:MeOH=15:85
flow: 1 mL/min



1. rhodamine B
2. Acetaminophen
3. Methylene blue

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

藥物食品檢驗局調查研究年報, 1991

著色劑之快速篩檢方法開發 及未知物之鑑別

-Orbitrap在食品中著色劑分析之應用



大綱

藥求安全 食在安心

- 食品添加物快速篩檢目的
- 快速篩檢方法之建立
- 資料庫建立及樣品檢驗結果
- 結論、討論、未來發展



前言

著色劑常於食品中篩檢出超量或誤用

藥求安全 食在安心



北市稽查兒童食品 3產品未詳標**著色劑**



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/>

食品中防腐劑、調味劑、著色劑之檢驗方法

方法	名稱	檢驗方法概述	品項
公告方法	食品中色素之檢驗方法	80%乙醇萃取，LC/DAD或LC/MS/MS分析	8項
公告方法	食品中蘇丹色素之檢驗方法	正己烷/丙酮萃取，固相萃取匣淨化，LC/MS/MS分析	4項
公告方法	食品中防腐劑之檢驗方法	蒸餾或直接稀釋上機，LC/DAD或LC/MS/MS分析	12項
公告方法	食品中防腐劑之檢驗方法-丙酸	蒸餾後以LC/DAD分析	1項
公告方法	食品中甜味劑之檢驗方法	現有公告方法無法有效廣泛監測眾多的食品添加物及違法添加物品項	
建議方法	食品中甜味劑之檢驗方法		

安心

不法添加物檢驗

藥求安全 食在安心

澎湖縣政府衛生局 函

機關地址：澎湖縣馬公市中正路115號
承辦人：曾國欣
電話：06-9272162 分機273

澎湖縣政府衛生局 函

機關地址：澎湖縣馬公市中正路115號
承辦人：曾國欣
電話：06-9272162 分機273
傳真：06-9275994
電子信箱：phh273@ksmail.mohw.gov.tw

受文者：衛生福利部食品藥物管理署

查考及辦理情形或查驗結果：
附件：如說明三

主旨：檢送行政院海岸巡防署海岸巡防總局南部地區巡防局函

送之茶葉(高冷茶)檢體(完整包裝)1件，惠請 鈞署協助檢

驗農藥殘留及不法添加物，請 鑒核。

年11月13日澎湖機字第1030015144號函辦理。

- 二、檢驗理由略以：澎湖機動查緝隊因偵辦案件，偵查
- 三、檢送隨函之茶葉檢體共1件，惟若驗訖尚有餘存，

不法添加物??

標的物?
非標的物?
未知物?

傳統檢驗分析

優點

1. 針對目標物發展出獨特的樣品萃取及前處理方法
2. 層析方法能適當分離出目標物與食品基質
3. 感度高，特異性高
4. 多為公告方法及國際方法，為目前分析檢驗主流

缺點

1. 不能同時檢驗性質差異太大的化合物
2. 無法檢驗標的物以外的物質

食品添加物(含合法及非法添加物)種類繁多

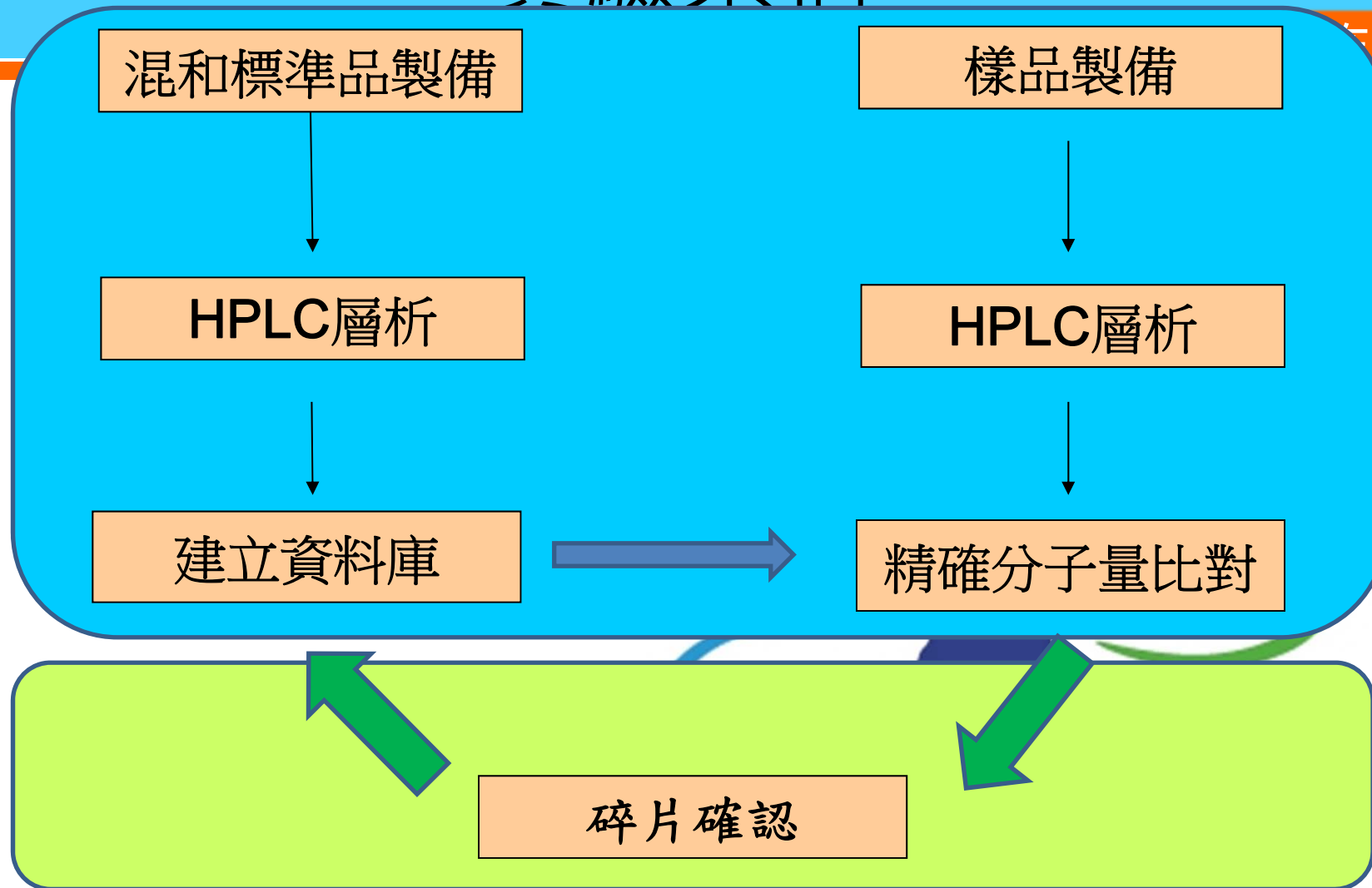
研究目的

藥求安全 食在安心

以類似非標的物的篩檢模式
利用高解析度質譜儀配合液相層析做全離子掃描，
建立著色劑之快速篩檢方法



實驗架構



安心

A

樣品製備

藥求安全 食在安心

- 均質後檢體10克，以50%甲醇水溶液定溶至50mL，適當稀釋後過濾上機。



層析條件

藥求安全 食在安心

HPLC-分析條件

- 移動相：
 - 20mM醋酸銨溶液(A)：乙腈(B)。
 - 層析管：C18，2.7 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm
 - 0.1%甲酸
- 移動相流速：
 - 0.5 mL/min
- 注入體積：
 - 5 μL
- 層析管溫度：
 - 30°C
- Orbitrap質譜儀：
 - 掃描範圍100 ~ 1000 (m/z)

Time	A(%)	B(%)
0	90	10
15	0	100
20	0	100
21	90	10
25	90	10

資料庫

藥求安全 食在安心

Compound name	Elemental composition	Charge	RT(min)
sorbitol	C6H14O6	+	1.14
xylitol	C5H12O5	+	1.14
Saccharin	C7H5NO3S	-	2.7
Cyclamate	C6H13NO3S	-	3.26
Aspartame	C14H18N2O5	+	4.64
Stevioside	C38H60O18	+	5.99
Acesulfame Potassium	C4H5NO4S	-	2.16
Dulcin	C9H12N2O2	+	5.43
neohesperidin dihydrochalcone	C28H36O15	+	5.75
Glycyrrhizic acid	C42H61O16	-	6.55
Neotame	C20H30N2O5	+	6.58
Alitame	C14H25N3O4S	+	4.94
benzoic acid	C7H6O2	-	5.51
p-hydroxybenzoic acid	C7H6O3	-	3.55
salicylic acid	C7H6O3	-	4.23
methyl p-hydroxybenzoate	C8H8O3	-	5.93
ethyl p-hydroxybenzoate	C9H10O3	-	6.79
propyl p-hydroxybenzoate	C10H12O3	-	7.68
iso-propyl p-hydroxybenzoate	C10H12O3	-	7.61
butyl p-hydroxybenzoate	C11H14O3	-	8.45

FDA

資料庫

藥求安全 食在安心

Compound name	Elemental composition	Charge	RT(min)
iso-butyl p-hydroxybenzoate	C11H14O3	-	8.43
sec-butyl p-hydroxybenzoate	C11H14O3	-	8.26
dehydroacetic acid	C8H8O4	+	6.35
Natamycin	C33H47NO13	-	6.13
R6 (cochineal red A, ponceau 4R)	C20H14N2O10S3	-	3.32
R7 (erythrosine)	C20H6I4O5Na2	+	7.85
Y4 (tartrazine)	C16H12N4O9S2	-	1.57
Y5 (sunset yellow)	C16H12N2O7S2	-2	3.93
B1 (brilliant blue FCF)	C37H36N2O9S3	-2	5.21
B2 (indigo carmine)	C16H10N2O8S2	+2	6.32
G3 (fast green FCF)	C37H36N2O10S3	-	4.98
R40 (allura red AC)	C18H16N2O8S2	-	4.08
Quinoline yellow S	C18H11NO5S	-	5.5
xylene fast yellow 2G(acid yellow 17)	C16H12Cl2N4O7S2	+	4.11
alpha-naphthol orange (acid orange 2)	C16H12N2O4S	-	6.34
Crocein orange G	C16H12N2O4S	-	6.32
naphthol yellow S	C10H6N2O8S	-	3.94
Orange G	C16H12N2O7S2	+	4.04
methyl yellow	C14H15N3	+	11.24
ponceau SX	C18H16N2O7S2	-	5.06
ponceau 3R	C19H18N2O7S2	-	5.42

資料庫 (共62項)

藥求安全 食在安心

Compound name	Elemental composition	Charge	RT(min)
erythrosin B (red 3, acid red 51)	C20H8I4O5	+	7.95
Amaranth	C20H14N2O10S3	-	1.62
Rhodamine B	C28H30N2O3	+	8.73
patent blue V (B5, E131, acid blue 1)	C27H32N2O6S2	+2	6.03
Alizarin green (patent green)	C37H35ClN2O6S2	+	6.49
Alizarin (turkey red)	C14H8O4	-	7.89
Scarlet GN	C18H16N2O7S2	+	4.7
Lissamine green B	C27H26N2O7S2	+	5.31
Azo rubine (brilliant crimson red, R10)	C20H14N2O7S2	-	5.09
solvent green 3	C28H22N2O2	+	15.36
Rose bengal	C20H4Cl4I4O5	-	9.76
Sudan Red 7B	C24H21N5	+	15.01
Sudan I	C16H12N2O	+	11.78
Sudan II	C18H16N2O	+	13.11
Sudan III	C22H16N4O	+	13.85
Sudan IV	C24H20N4O	+	15.51
Sudan Black B	C29H24N6	+	13.46
Sudan red G	C17H14N2O2	+	11.58
Sudan orange G	C12H10N2O2	+	9.03
para red	C16H11N3O3	+	9.93
chrysoidine G	C12H12N4	+	6.97

市售產品調查

117件糖果 肉乾 及蜜餞食品，針對合法及非法防腐劑 調味劑 著色劑篩檢



資料庫比對

Raw File Name: F:\WENSHAN\103.10.06\1007DATA\104N.raw

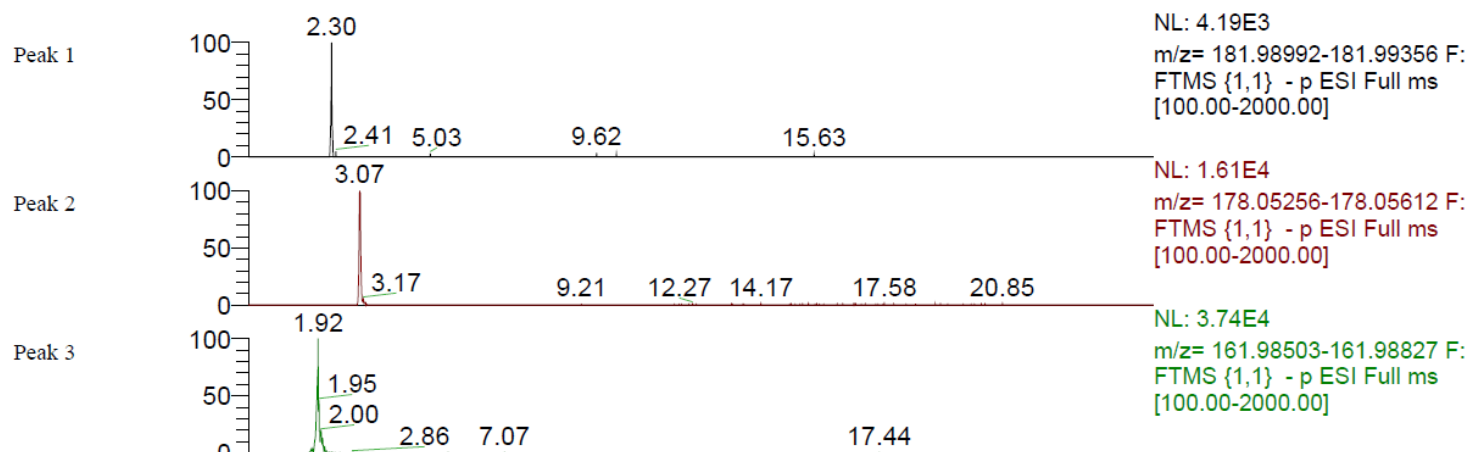
Config File Name: C:\Documents and Settings\Exactive\Desktop\Orbi list_working_final.csv

Sample Name:

Laboratory:

Acquisition Start Time: October 08, 2014 1:42:31 AM

Screening Conditions: Based on Exactive screening method. Accurate mass window (ppm): 10, Adducts: H, NH4, Na, No specified retention time, Use most highest peak. The Delta, Actual RT and intensity are reported based on the adduct labeled with "**".



#	Comp. Index	Compound Name	Formula	Detected m/z	Delta (ppm)	Expected RT	Actual RT	Intensity	Adducts			Fragments		
									H	NH4	Na	1	2	3
1	3	Saccharin	C7H5NO3S	181.99222	2.6	2.70	2.30	4051	Y*	-	-	-	-	-
2	4	Cyclamate	C6H13NO3S	178.05470	2.1	3.26	3.07	15940	Y*	-	-	-	-	-
3	7	Acesulfame Potassium	C4H5NO4S	161.98691	1.6	2.16	1.92	36963	Y*	-	-	-	-	-

資料庫比對

只憑精確分子量定性，仍有偽陽性風險

Raw File Name: F:\WENSHAN\103.10.06\1007DATA\108N.raw

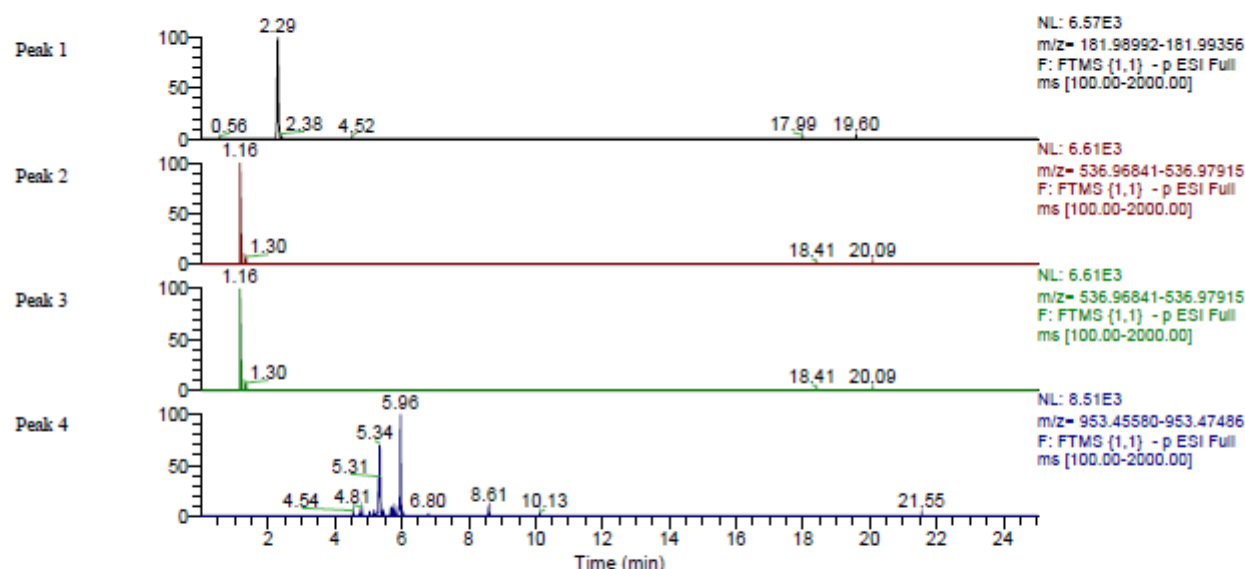
Config File Name: C:\Documents and Settings\Exactive\Desktop\Orbi list_working_final.csv

Sample Name:

Laboratory:

Acquisition Start Time: October 08, 2014 3:26:45 AM

Screening Conditions: Based on Exactive screening method. Accurate mass window (ppm): 10, Adducts: H, NH4, Na, No specified retention time, Use most highest peak. The Delta, Actual RT and intensity are reported based on the adduct labeled with "a".



#	Comp. Index	Compound Name	Formula	Detected m/z	Delta (ppm)	Expected RT	Actual RT	Intensity	Adducts			Fragments		
									H	NH4	Na	1	2	3
1	3	Saccharin	C7H5NO3S	181.99208	1.9	2.70	2.29	6411	Y*	-	-	-	-	-
2	25	R6 (cochineal red A, ponceau 4R)	C20H14N2O10S3	536.96997	-7.1	3.32	1.16	6571	Y*	-	-	-	-	-
3	44	Amaranth	C20H14N2O10	536.96997	-7.1	1.62	1.16	6571	Y*	-	-	-	-	-
4	53	Rose bengal	C20H4Cl4I4O5	953.46521	-0.1	9.76	5.96	8455	N	Y*	N	-	-	-

偽陽性

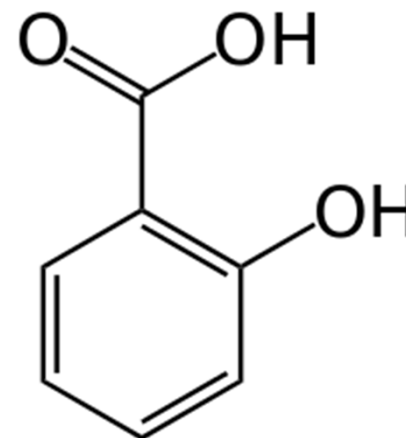
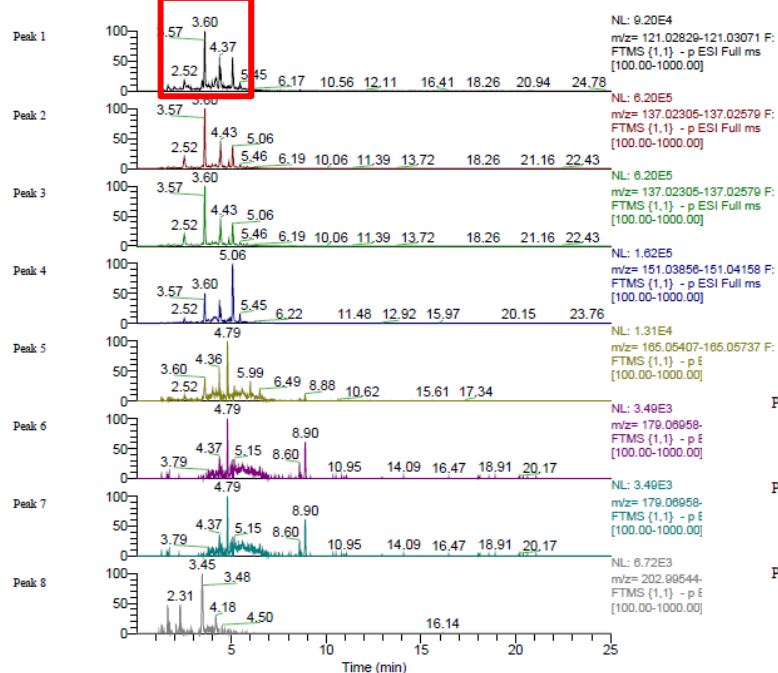
資料庫比對

只憑精確分子量定性，仍有偽陽性風險

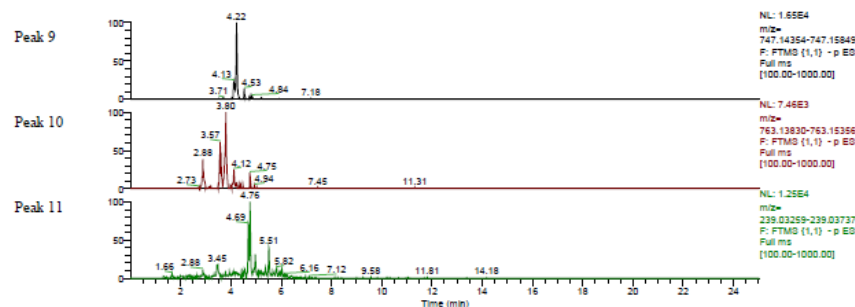
Raw File Name: F:\mingshih\uknown\2014Nov18_tea\TEA_high_141125163358.raw
 Config File Name: C:\Documents and Settings\Exactive\Desktop\Orbi list_working_final.csv
 Sample Name: Laboratory:

Acquisition Start Time: November 25, 2014 4:33:58 PM

Screening Conditions: Based on Exactive screening method. Accurate mass window (ppm): 10. Adducts: H, NH4, Na. No specified retention time. Use most highest peak. The Delta, Actual RT and intensity are reported based on the adduct labeled with "H".



Salicylic acid
C7H6O3
 $m/z=137.0240$

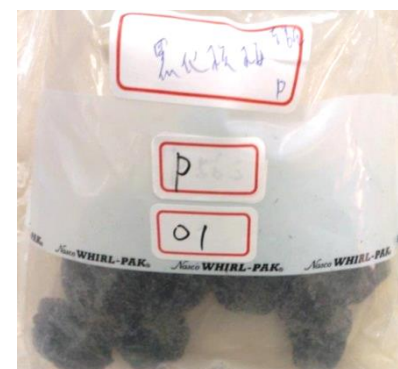


#	Comp. Index	Compound Name	Formula	Detected m/z	Delta (ppm)	Expected RT	Actual RT	Intensity		#	Comp. Index	Compound Name	Formula	Detected m/z	Delta (ppm)	Expected RT	Actual RT	Intensity	Adducts			Fragments		
																			H	NH4	Na	1	2	3
1	13	BA	C7H6O2	121.02910	-3.3	5.51	3.60	90172	Y	9	29	B1 (brilliant blue FCF)	C37H36O9N2S3	747.15289	2.5	5.21	4.22	16494	Y*	-	-	-	-	-
2	14	PBA	C7H6O3	137.02403	-2.8	4.06	3.60	611091	Y	10	32	G3 (fast green FCF)	C37H36N2O10	763.14771	2.3	4.98	3.80	7354	Y*	-	-	-	-	-
3	15	SA	C7H6O3	137.02403	-2.8	4.60	3.60	611091	Y	11	48	Alizarin (turkey red)	C14H8O4	239.03621	5.1	7.89	4.76	12482	Y*	-	-	-	-	-
4	16	MP	C8H8O3	151.04022	1.0	5.93	5.06	158404	Y															
5	17	EP	C9H10O3	165.05605	2.0	6.79	4.79	12748	Y*	-	-	-	-	-										
6	18	PP	C10H12O3	179.07184	2.6	7.68	4.79	3305	Y*	-	-	-	-	-										
7	19	isoPP	C10H12O3	179.07184	2.6	7.61	4.79	3305	Y*	-	-	-	-	-										
8	28	Y5 (sunset yellow)	CH10ON5S3	202.99940	9.5	3.93	3.45	6654	Y*	-	-	-	-	-										

檢驗結果

件數(件)	陰性	陽性
117	113	1

編號	品名	標示項目	檢出	不合格原因
D117	黑化核梅		黃色五號、紅色六號 綠色二號	未標示 違法使用



- 食品添加物快速篩檢方法，使用精確分子量及主波峰留滯時間，可提供定性鑑定依據，做為食品中添加物之快速篩檢。
- 檢液製備時間短、成本低，為一較現有公告方法更快速、環保，且可涵蓋更多添加物品項之快速篩檢方法。
- 精確分子量仍需配合主波峰滯留時間作為鑑定依據，單憑精確分子量定性，仍具有高偽陽性。
- 已知化學結構式但無標準品比對仍有困難。
- 資料庫的建立仍須以有標準品之化學物質為主。



常見問題

藥求安全 食在安心

Question：

添加紅色6號之檢體，經TLC分析發現，疑似檢出未標示之紅色40號，(低於3%)，請問該如何判定。

1. 認定業者標示不符？
2. 著色劑規格不符？
3. 其他。



添加物規格標準

食用紅色六號

New Coccin (Food Red No.6)

常用名稱：Cochineal Red A；New Coccin

化學名稱：Trisodium salt of 1-(4'-sulfo-1'-naphthylazo)-2-naphthol-6,8-disulfonic acid

分子式： $C_{20}H_{11}O_{10}N_2S_3Na_3$

分子量：604.54

1. 含量：82 %以上。
2. 外觀：紅~暗紅色粉末或粒，無臭。
3. 溶狀：本品 0.1 g 溶於水 100 mL，其溶液應「澄明」。
4. 水不溶物：0.3 %以下。
5. 氯化物及硫酸鹽：總量在 8 %以下（以 Cl， SO_4 計）。
6. 砷：2 ppm 以下（以 As_2O_3 計）。
7. 重金屬：鐵 500 ppm 以下。
鉻 25 ppm 以下。
鋅 200 ppm 以下。
其他 20 ppm 以下（以 Pb 計）。
8. 其他色素：3 %以下。
9. 乾燥減重：10 %以下（135 °C，6 小時）。

全 食在安心

物規
但是

DA

Ans

若檢
格標
業者



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/>

常見問題

藥求安全 食在安心

Question：

如何申請食品中著色劑之檢驗方法之本署實驗室認證？

Answer：

濾紙層析、薄層層析及HPLC/PDA法均需執行檢驗方法並依照實驗室認證作業程序申請認證。

Answer：

若檢出未標示之著色劑是來自符合添加物規格標準之其他色素，則並未違反規定，但是業者要提出相關資料佐證說明。



藥求安全 食在安心

報告完畢
敬請指教



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/>