

食品中調味劑之檢驗方法— 醋
磺內酯鉀、糖精、甘精及環己
基(代)磺醯胺酸之檢驗

- **98 年 12 月 17 日署授食字第 0981800508 號公告訂定 100 年 1 月 25 日署授食字第 1001900038 號公告修正**

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中醋磺內酯鉀(acesulfame potassium)、糖精(saccharin)、甘精(dulcin)及環己基(代)磺醯胺酸(cyclamate)調味劑之檢驗。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)。

醋磺內酯鉀、糖精及甘精

- 高效液相層析測定條件：
- 光二極體陣列檢出器：波長**230 nm**。
 - 移動相溶液：
乙腈與**0.2%**磷酸溶液以**12：88 (v/v)**之比例混勻，
以濾膜過濾。
- 移動相流速：**1.0 mL/min**。

環己基(代)磺醯胺酸

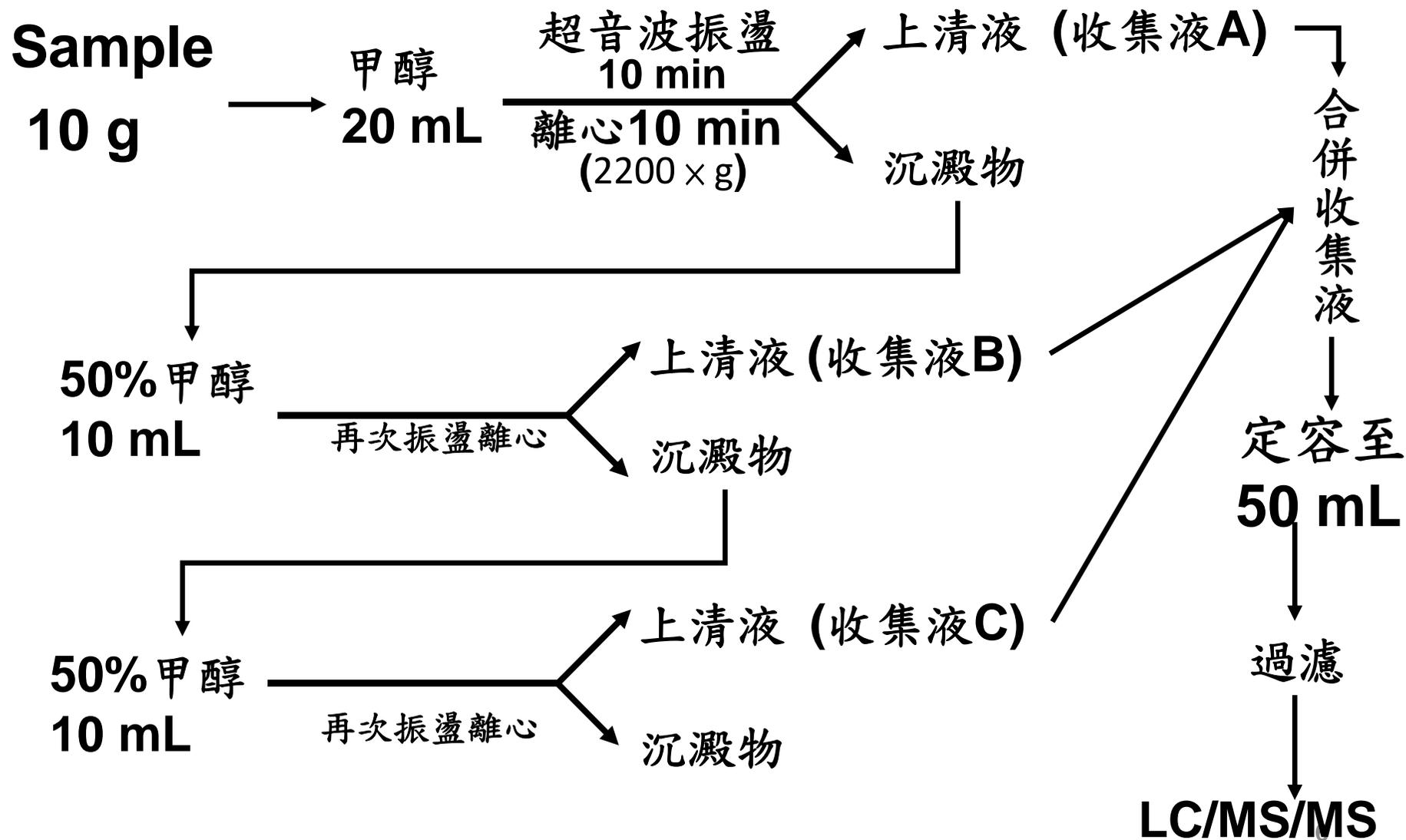
- 高效液相層析測定條件：
- 光二極體陣列檢出器：波長314 nm。
- 移動相溶液：乙腈與0.02%磷酸溶液以7：3 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾。
- 移動相流速：1.0 mL/min。

食品中甜味劑之檢驗方法 建議檢驗方法 102年4月3日公開

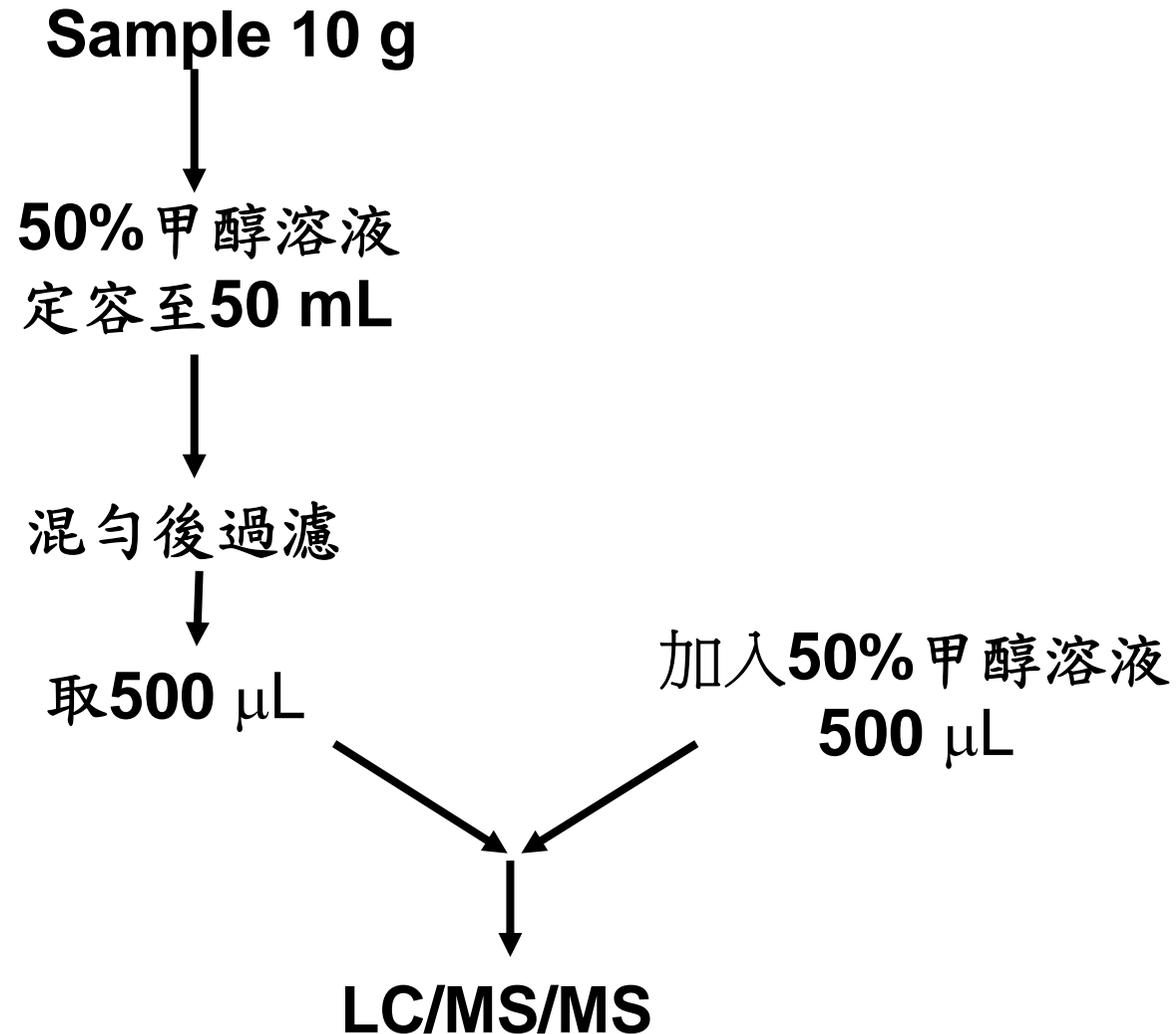
以LC/MS/MS利用正/負離子電灑法(ESI positive /negative mode)以MRM模式同時檢測食品中10項人工甜味劑

Acesulfame potassium	醋磺內酯鉀
Aspartame	阿斯巴甜
Cyclamate	環己基(代)胺基磺酸
Dulcin	對位乙氧苯脲
Glycyrrhizin	甘草素
Neotame	紐甜
NHDC	新橙皮苷二氫查爾酮
Saccharin	糖精
Stevioside	甜菊糖苷
Sucralose	蔗糖素

固體檢體前處理



液體檢體前處理



液相層析串聯質譜測定條件

Column :

Agilent Eclipse Plus Phenyl-Hexyl 5 μm 4.6*100 mm

移動相:

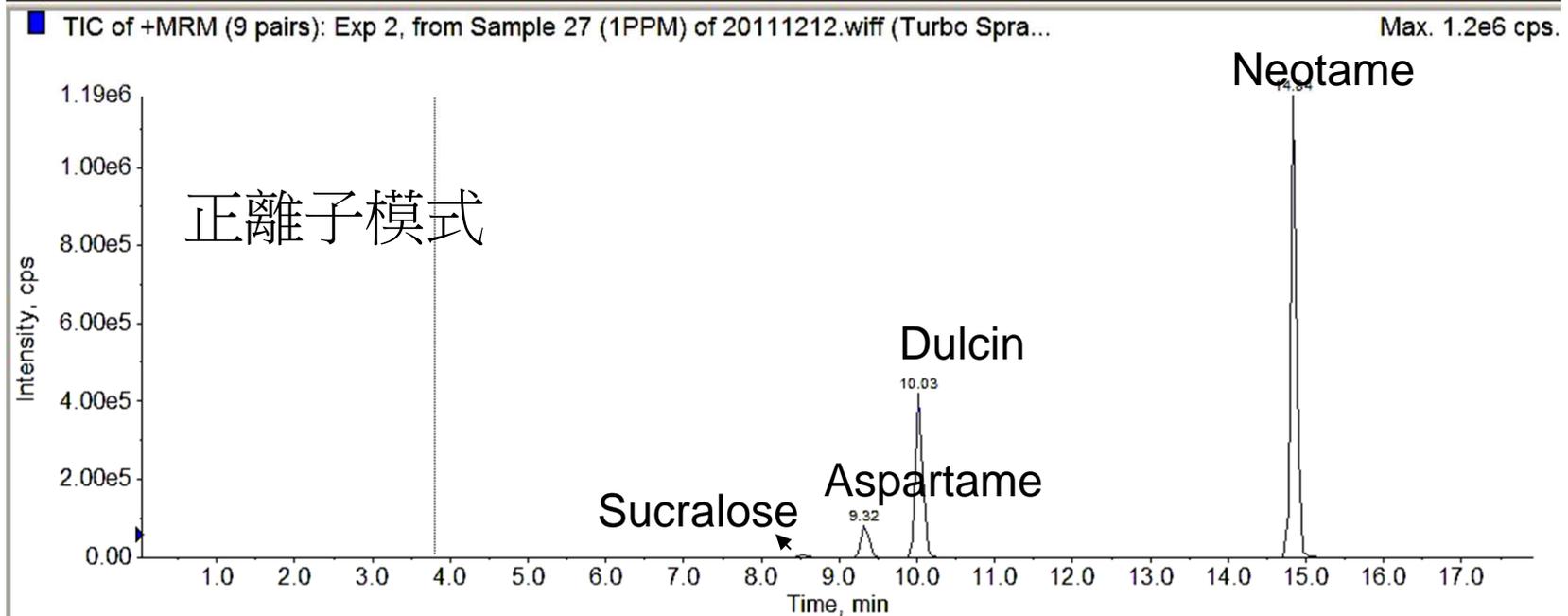
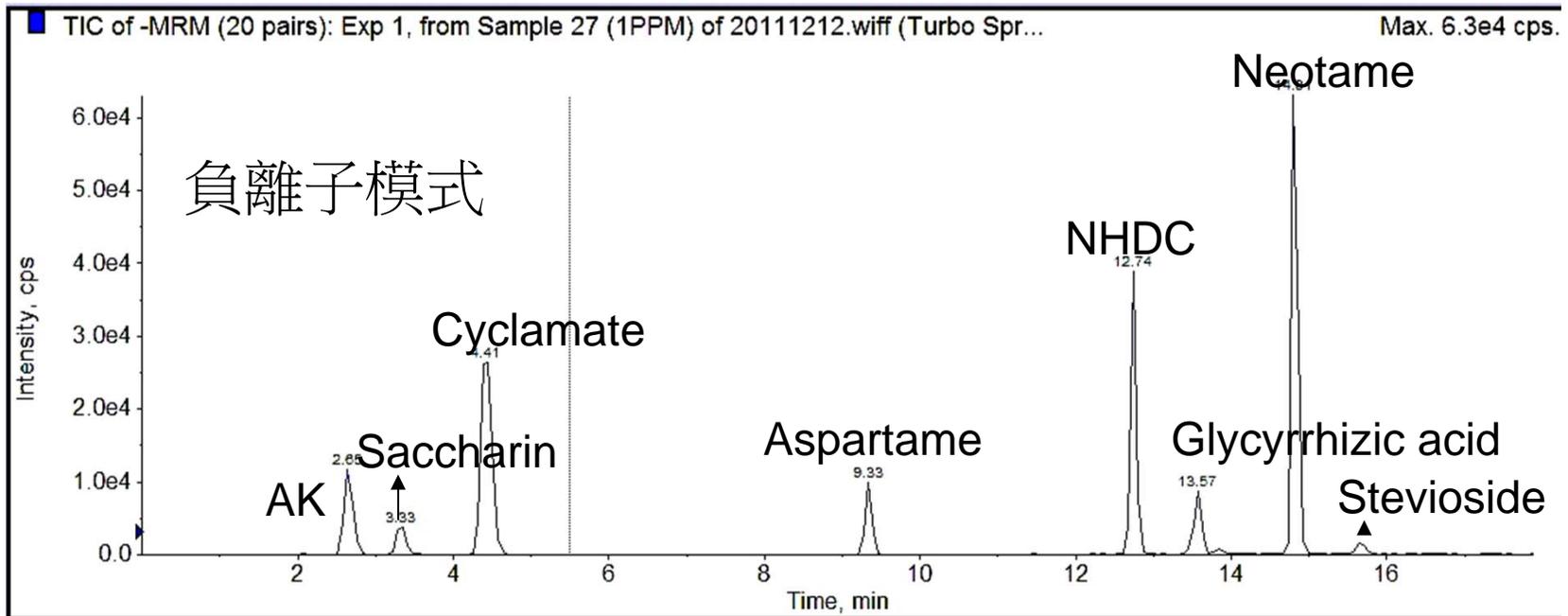
A: 10 mM 甲酸銨水溶液 : 甲醇
= 9 : 1(V/V)

B: 10 mM 甲酸銨水溶液 : 甲醇 =
1 : 9(V/V)

Flow rate: 0.8 mL/min

oven: 30°C

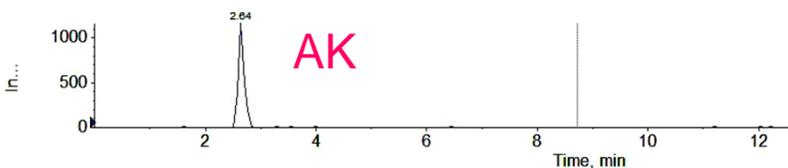
Time (min)	A	B
0	80	20
3	80	20
6	60	40
12	20	80
15	20	80
15.1	80	20
18	80	20



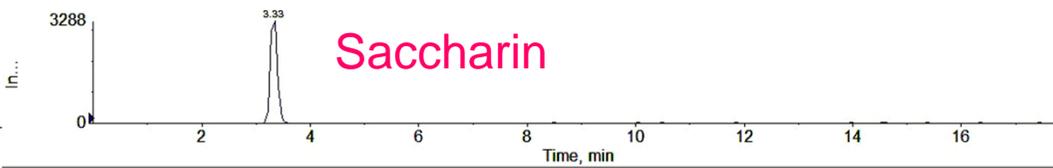
10種人工甘味劑之質譜總離子層析圖 (1 $\mu\text{g/mL}$)

10項人工甘味劑(1 µg/mL)之多重反應偵測層析圖譜

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 162.000/82.000 Da ID: AK 1 from Sample 27 (1PPM)...



XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 182.000/106.000 Da ID: Saccharin 1 from Sample 2...

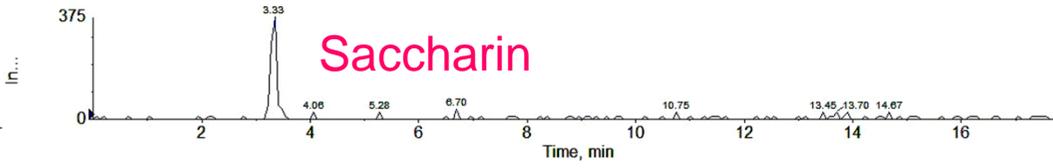


Max. 3287.5 cps.

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 162.000/78.000 Da ID: AK 2 from Sample 27 (1PPM) ...

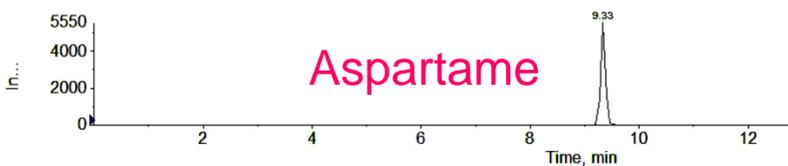


XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 182.000/62.000 Da ID: Saccharin 2 from Sample 27 (...)



Max. 375.0 cps.

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 293.000/261.000 Da ID: aspartame 1 from Sample 2...



XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 821.000/113.000 Da ID: glycyrrhizic acid 1 from Sam...▲



Max. 4387.5 cps.

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 293.000/217.000 Da ID: aspartame 2 from Sample 2...

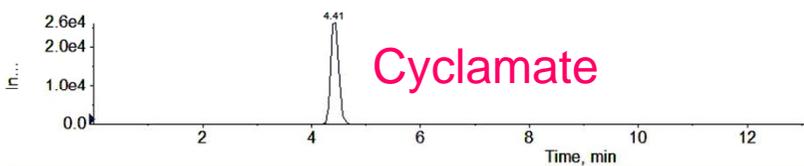


XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 821.000/193.000 Da ID: glycyrrhizic acid 4 from Sam...



Max. 1875.0 cps.

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 178.000/80.000 Da ID: cyclamate 1 from Sample 27 (...)

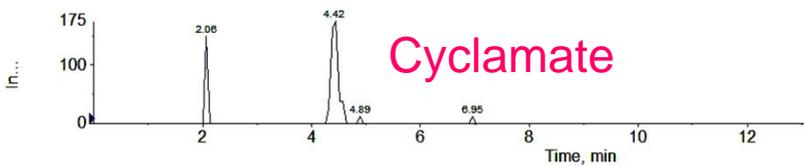


XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 822.000/113.000 Da ID: glycyrrhizic acid 2 from Sam...

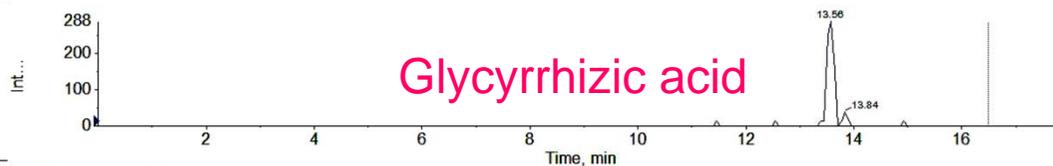


Max. 2112.5 cps.

XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 178.000/95.000 Da ID: cyclamate 2 from Sample 27 (...)

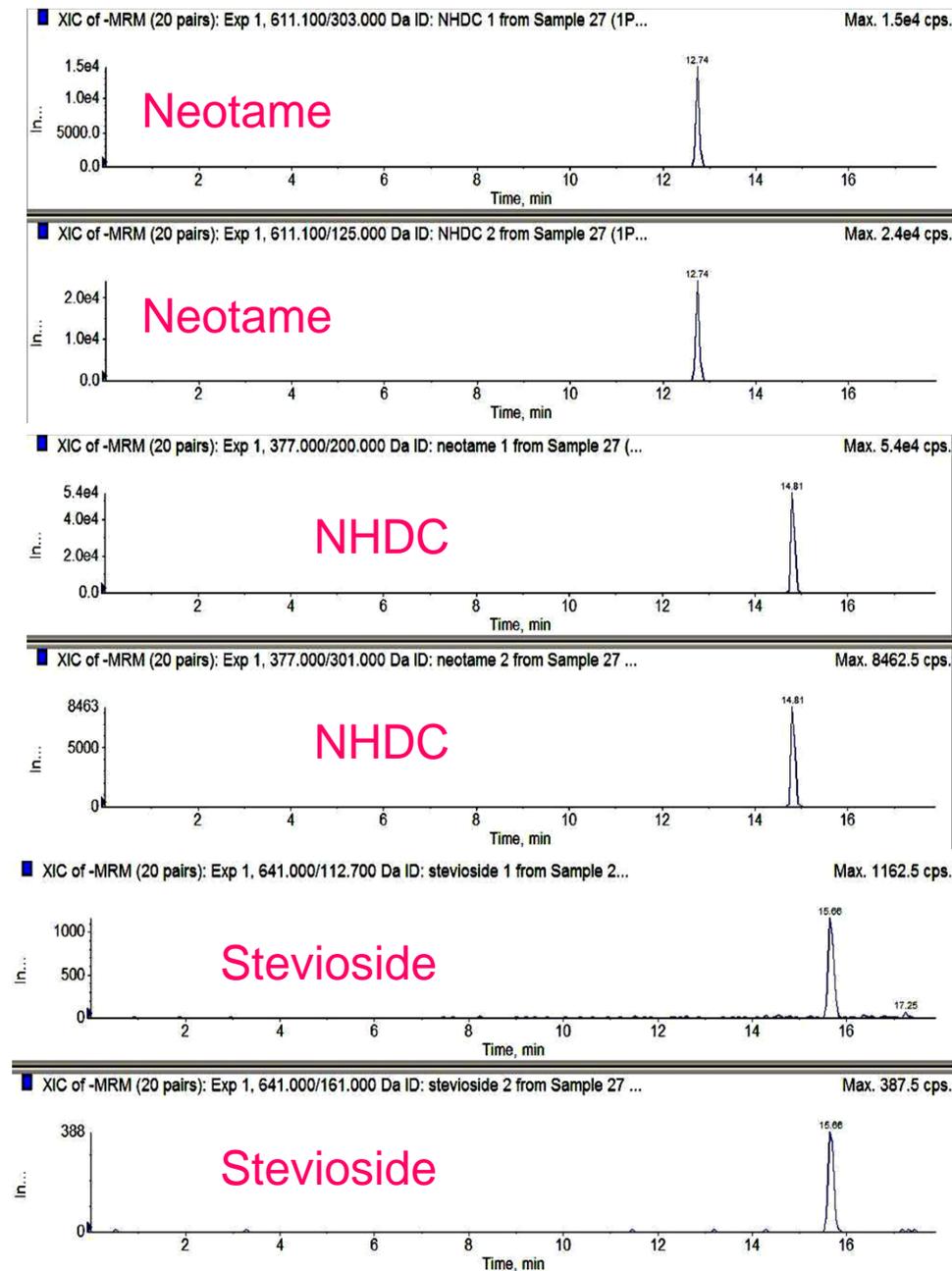


XIC of -MRM (20 pairs): Exp 1, 822.000/175.000 Da ID: glycyrrhizic acid 3 from Samp...

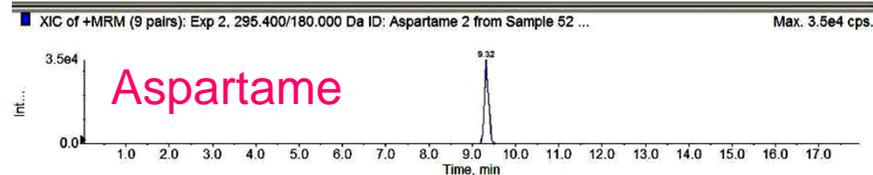
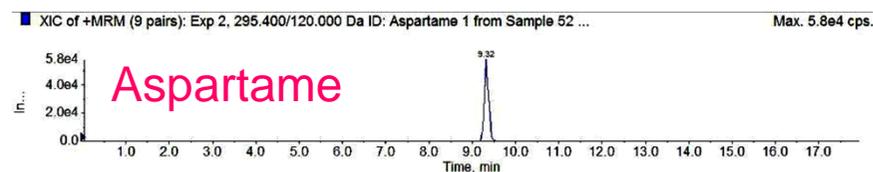
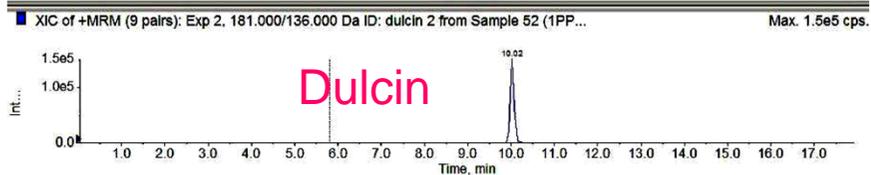
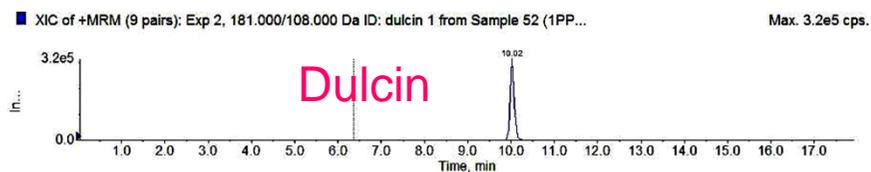
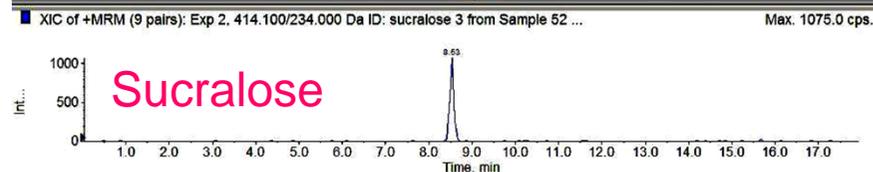
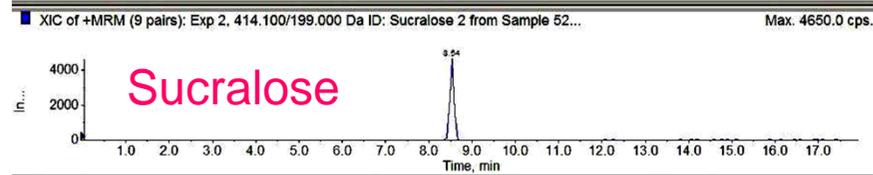
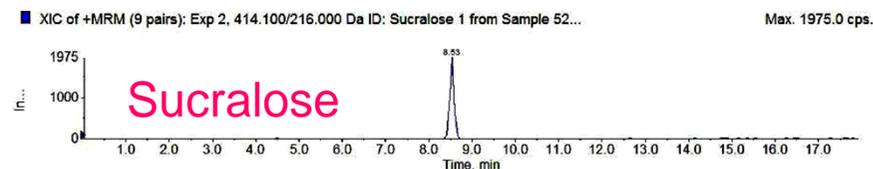
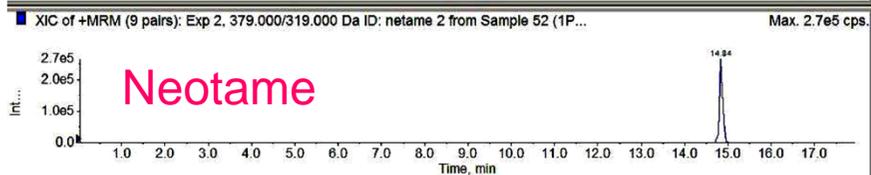
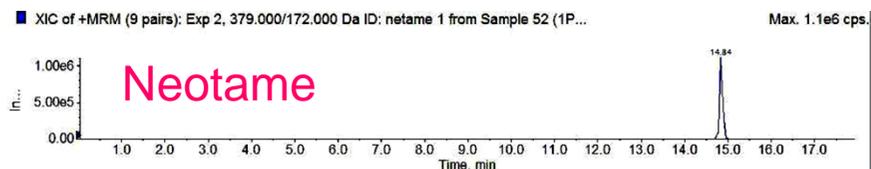


Max. 287.5 cps.

10項人工甘味劑(1 $\mu\text{g/mL}$)之多重反應偵測層析圖譜



10項人工甘味劑(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)之多重反應偵測層析圖譜



食品中防腐劑之檢驗方法

• 101 年11 月19 日署授食字第1011903320 號公告

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中酸類防腐劑[苯甲酸(benzoic acid)、己二烯酸(sorbic acid)、去水醋酸(dehydroacetic acid)、對羥苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)、水楊酸(salicylic acid)]及酯類防腐劑[對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丙酯(isopropyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸丙酯(propyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸第二丁酯(secbutyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丁酯(isobutyl *p*-hydroxybenzoate)及對羥苯甲酸丁酯(butyl *p*-hydroxybenzoate)]之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經直接稀釋或振盪萃取或水蒸氣蒸餾後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。

稀釋法(適用液體檢體)：

- 含二氧化碳之檢體應先去除二氧化碳，取檢體約5 g，精確稱定，以50%甲醇溶液定容至100 mL，混勻後，靜置10分鐘，經濾膜過濾，取濾液供作檢液。

萃取法

- 將檢體均質混勻後，取約**5 g**，精確稱定，加入**50% 甲醇溶液 50 mL**，經超音波振盪**30 分鐘**後，以**50% 甲醇溶液**定容至**100 mL**，取試量萃取液，於**3500 rpm** 離心**10 分鐘**，取上清液經濾膜過濾後，取濾液供作檢液。

水蒸氣蒸餾法

- 將檢體均質混勻後，取約**25 g**，精確稱定，置於蒸餾瓶中，加入**15%**酒石酸溶液**15 mL**、氯化鈉**60 g**及去離子水**150 mL**，以水蒸氣蒸餾之，以每分鐘約**10 mL**之速度收集餾出液約**490 mL**，以去離子水定容至**500mL**，經濾膜過濾後，取濾液供作檢液。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液A：5 mM 檸檬酸緩衝溶液。

2.5.2. 移動相溶液B：

同時檢測

取甲醇與乙腈以1：2 (v/v)之比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

2.5.3. 移動相溶液C：己二烯酸、對羥苯甲酸、水楊酸、苯甲酸及去水醋酸

取甲醇、乙腈及5 mM 檸檬酸緩衝溶液以1：2：7 (v/v/v)之比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液C。

2.5.4. 移動相溶液D：對羥苯甲酸酯類

取甲醇及5 mM 檸檬酸緩衝溶液以6：4 (v/v)之比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液D。

高效液相層析測定條件：

層析管：ACE C18-AR，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 25 cm。

移動相流速：1 mL/min。

層析測定條件 1：

光二極體陣列檢出器：波長 230 nm (水楊酸、苯甲酸及去水醋酸)、256 nm
(對羥苯甲酸及其酯類)及 260 nm (己二烯酸)。

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 \rightarrow 5	78 \rightarrow 73	22 \rightarrow 27
5 \rightarrow 20	73 \rightarrow 63	27 \rightarrow 37
20 \rightarrow 50	63 \rightarrow 33	37 \rightarrow 67
50 \rightarrow 65	33 \rightarrow 78	67 \rightarrow 22

層析測定條件 2：

光二極體陣列檢出器：波長 230 nm (水楊酸、苯甲酸及去水醋酸)、256 nm (對羥苯甲酸)及 260 nm (己二烯酸)。

移動相溶液：C 液。

層析測定條件 3：

光二極體陣列檢出器：波長 256 nm (對羥苯甲酸酯類)。

移動相溶液：D 液。

附表、苯甲酸等 12 項防腐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)
苯甲酸	ESI	121 > 77	-40	-15	—	—	—
己二烯酸	ESI ⁺	113 > 95	21	15	113 > 67	21	21
去水醋酸	ESI ⁺	169 > 85	42	27	169 > 127	42	18
對羥苯甲酸	ESI	137 > 93	-27	-16	137 > 65	-27	-40
水楊酸	ESI	137 > 93	-27	-26	137 > 65	-27	-41
對羥苯甲酸甲酯	ESI	151 > 92	-37	-29	151 > 136	-37	-20
對羥苯甲酸乙酯	ESI	165 > 92	-30	-31	165 > 137	-30	-18
對羥苯甲酸異丙酯	ESI	179 > 92	-38	-32	179 > 137	-38	-19
對羥苯甲酸丙酯	ESI	179 > 92	-38	-32	179 > 137	-38	-20
對羥苯甲酸第二丁酯	ESI	193 > 92	-39	-32	193 > 136	-39	-22
對羥苯甲酸異丁酯	ESI	193 > 92	-39	-32	193 > 136	-39	-21
羥羥苯甲酸丁酯	ESI	193 > 92	-39	-32	193 > 136	-39	-21

註：上述參數不適時，依所使用之儀器，設定適合之參數。

食品中著色劑之檢驗方法

• **101 年11 月19 日署授食字第1011903531
號公告**

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。

高效液相層析法(High performance liquid chromatography)

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。

移動相溶液 B：甲醇。

高效液相層析測定條件：

光二極體陣列檢出器：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 $^{\circ}\text{C}$ 。

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 \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。

附表、食用紅色六號等 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

註：上述參數不適時，依所使用之儀器，設定適合之參數。

檢驗案例一

食品中甜味劑之檢驗方法

一、標準溶液製備：

取Sucralose對照用標準品約10 mg，精確稱定，以50 % 甲醇溶液溶解並定容至10mL，作為標準原液(1000 µg/mL)，避光於-4°C貯存備用。使用時，再取適量標準原液，以50 % 甲醇溶液稀釋成1-10 µg/mL之標準溶液。(配置人：郭景豪，配置日期:100.5.21)

二、檢液製備：

取檢體約10 g，精確稱定，加入50% 甲醇溶液混勻，並定容至50 mL，以濾膜過濾後，作為檢液原液，取500 µL 加入50% 甲醇溶液500 µL 混勻後，供作檢液。

三、查核樣品分析：

取空白檢體5 g，置於50 mL離心管，外添加標準溶液使檢體濃度為含Sucralose 10 mg/kg之含量(使檢液理論值為1 ppm)。靜置20分鐘後，以50 % 甲醇溶液定容至50 mL，經0.22 µm濾膜過濾，取濾液供作查核樣品檢液。

四、方法空白樣品分析：

取50 % 甲醇溶液依檢液製備步驟製備為方法空白樣品分析用檢液。

五、基質效應分析：

取空白基質添加Sucralose標準品使其最終濃度為1 mg/L。取濾液供作基質效應分析用檢液。

七、檢驗結果：

一、方法空白樣品(50 % 甲醇溶液)及查核空白樣品皆低於偵測極限。

二、基質效應試驗：不具基質效應。

三、查核樣品結果：(三重複結果)

分析物	添加濃度(mg/kg)	回收濃度(mg/kg)	回收率(%)
查核樣品	1.00	0.89	89

四、檢體檢驗結果：未檢出。

檢驗案例二

食品中防腐劑之檢驗方法

一、檢驗項目

防腐劑檢驗：水楊酸、苯甲酸、對羥苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸、對羥苯甲酸甲酯(乙酯、丙酯、異丙酯、丁酯、異丁酯、間丁酯)

二、檢驗儀器

儀器	設備編號
電子天平	FDA11-I-BL-06
高效能液相層析儀	FDA4-I-LC14

三、檢驗流程

(一)檢液製備：

精確稱取 5 g。加50%甲醇溶液定容至 50 mL。超音波振盪30 分鐘後，以50%甲醇溶液定容至 100 mL，取試量萃取液，於3500 rpm 離心10 分鐘，取上清液經濾膜過濾後，取濾液供作檢液。

(二)標準溶液配製：(配製日期：101.10.1配製人員：郭景豪)

標準品配製：水楊酸、苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸、對羥苯甲酸等5種標準品各取50 mg溶解於0.1N NaOH後，以去離子水定容至50mL，供作標準原液。對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸異丙酯、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯、對羥苯甲酸間丁酯等7種標準品，各稱取50 mg溶解於50%甲醇後，以50%甲醇定容至50 mL，供作標準原液。精確量取上述各標準原液5 mL混合，供作防腐劑混合標準溶液(各100 µg/mL)

(三)查核樣品分析：

取空白檢體5 g，分別加入10 mg/L標準溶液 5 mL(使其檢體配製濃度分別為 20 mg/kg)。以去離子水定容至100 mL。過濾後上機。

(四)方法空白樣品分析：

取去離子水溶液依檢液製備步驟製備為方法空白樣品分析用檢液。

(五) 高效液相層析儀條件：

1. 移動相A：5 mM 檸檬酸緩衝溶液。

2. 移動相B：取甲醇與乙腈以1：2 (v/v) 之比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。

3. 層析管柱：waters BEH C18，1.7 μm ，內徑3 mm \times 15 cm。

4. 偵測器：PDA。波長230 nm (水楊酸、苯甲酸及去水醋酸)、256 nm (對羥苯甲酸及其酯類)及260 nm (己二烯酸)。

5. 移動相梯度：

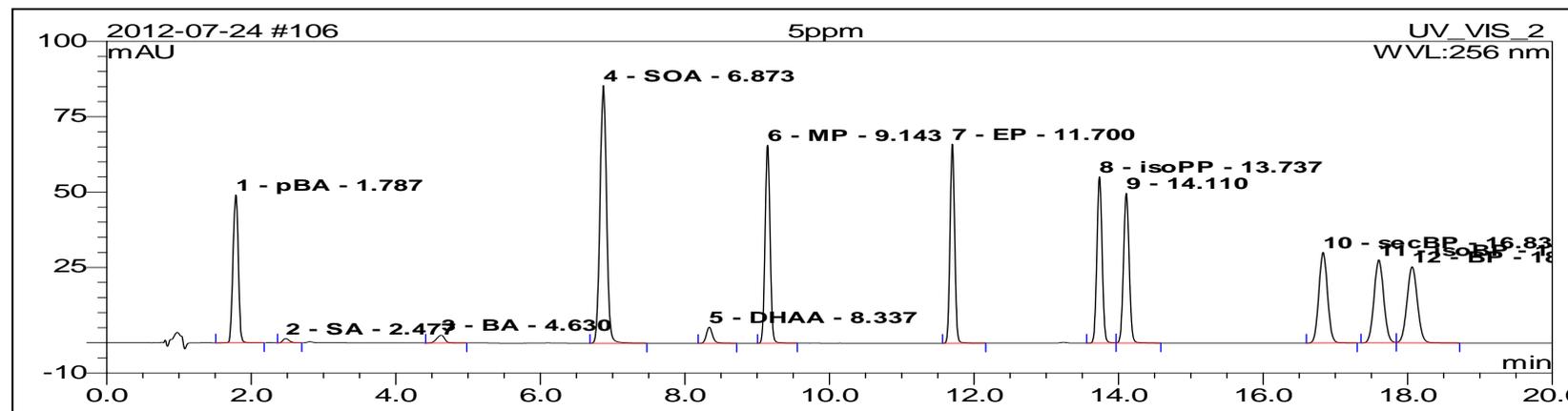
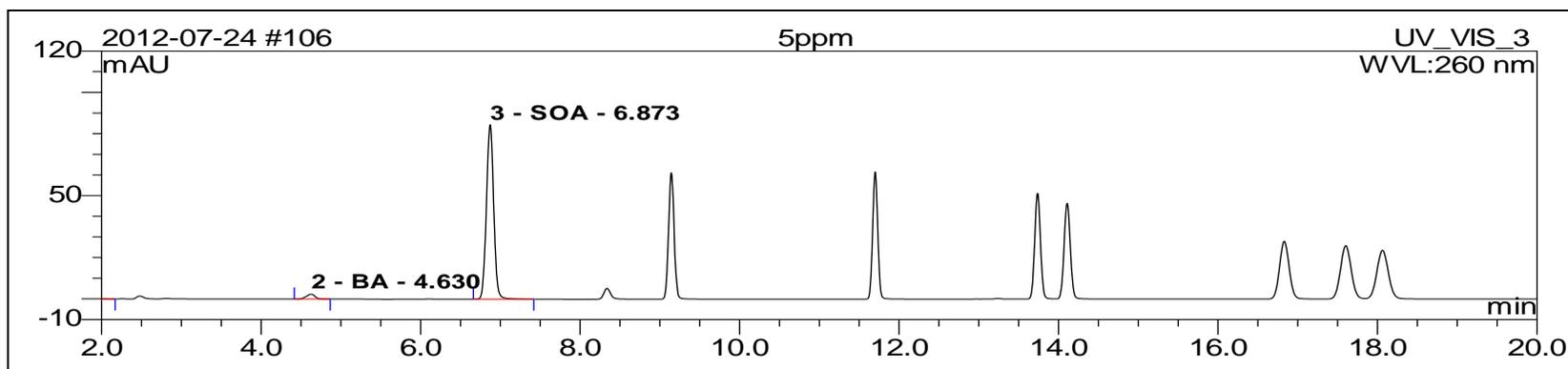
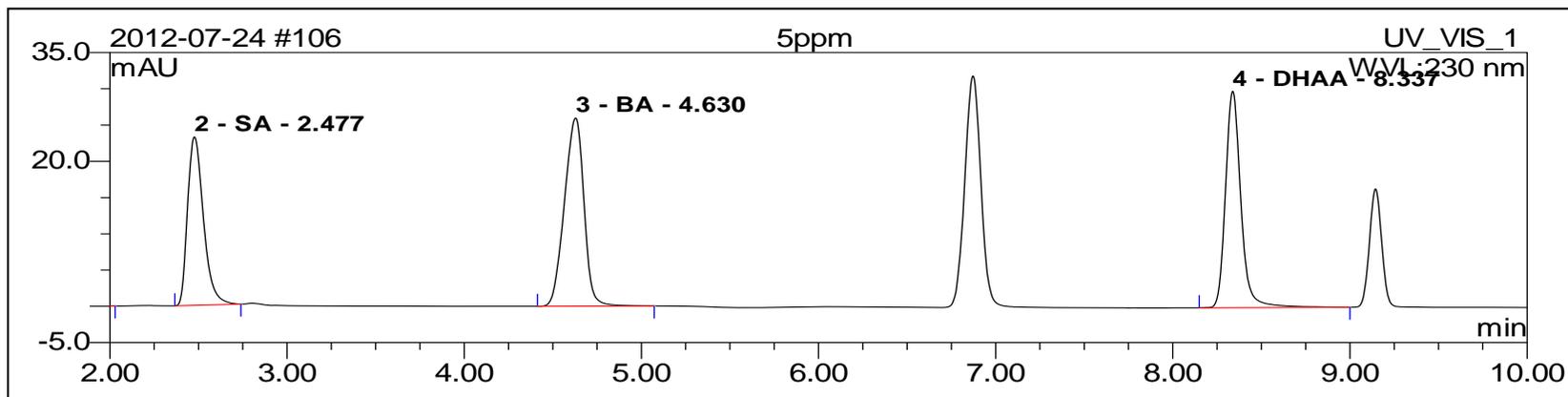
Time (min)	A%	B%	流速(mL/min)
0	100	0	0.6
3.5	100	0	0.6
11	82	28	0.6
20	70	28	0.6
20.1	70	50	0.6
23	50	50	0.6
23.1	50	0	0.6
25	100	0	0.6

四、檢驗結果：

(一) 流程空白樣品檢測結果低於檢出限量。

(二) 查核樣品分析：

分析物	添加濃度(mg/kg)	回收濃度(mg/kg)	回收率(%)
苯甲酸	20	18.7	93.5
對羥苯甲酸丁酯	20	17.9	89.5



注意事項

- 移動相為磷酸系統時，**HPLC**使用後要以水與有機相**1:1**比例(**v:v**)清洗系統，避免鹽類結晶，造成系統損害。
- 公告方法之**HPLC**條件僅能用在**DAD**及**UV**等系統，若需以液相層析串聯質譜儀進行確認時，**LC**之條件需另外建立，採用易結晶鹽類之移動相時，會造成**LCMSMS**系統損害。

感謝聆聽
敬請指教