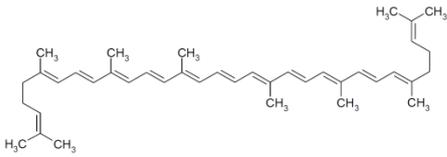
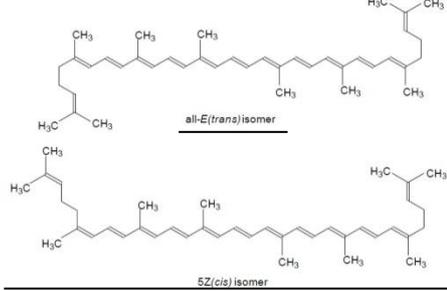


食品添加物規格檢驗方法－合成番茄紅素修正草案總說明

為加強食品添加物規格之管理，依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，並配合衛生福利部一百零九年九月二十九日衛授食字第一〇九一三〇二〇〇六號令修正「食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」第四條及第二條附表一、第三條附表二中合成番茄紅素之規格標準修正，爰擬具「食品添加物規格檢驗方法－合成番茄紅素」修正草案，其修正要點如下：

- 一、修正英文名稱。
- 二、修正「結構式」、「含量」、「類胡蘿蔔素檢測」、「光譜光度測定」、「鉛」、「Apo-12'-lycopenal」、「Triphenyl phosphine oxide (TPPO)」及「含量測定」。
- 三、增列「參考文獻」。
- 四、增修訂部分文字。

食品添加物規格檢驗方法－合成番茄紅素修正草案對照表

修正名稱	現行名稱	說明
合成番茄紅素 Lycopene (Synthetic)	合成番茄紅素 Synthetic Lycopene	修正英文名稱。
修正規定	現行規定	說明
<p>§ 08139 § 09034</p>  <p>分子式：$C_{40}H_{56}$ 分子量：536.9</p> <p>1.含量：本品所含番茄紅素總含量應在96%以上，全反式番茄紅素(all-<u>trans</u>-lycopene)含量應在70%以上。</p> <p>2.性狀：本品為紅色結晶粉末。</p> <p>3.溶解度：本品不溶於水，易溶於氯仿。</p> <p>4.類胡蘿蔔素檢測：本品於丙酮中，加入5%亞硝酸鈉溶液及1N硫酸溶液後，呈色會消失。</p> <p>5.溶於氯仿：本品溶於氯仿之1%溶液外觀為澄清、橘紅色。</p> <p>6.分光光度測定：本品於己烷中，按照吸光度測定法(附錄A-13)，在波長約470 nm有最大吸光值。</p> <p>7.乾燥減重：取本品0.5 g，按照乾燥減重檢查法(附錄A-3)，於40°C，10 mmHg乾燥4小時，其減失重量應在0.5%以下。</p> <p>8.鉛：取本品0.5 g，按照衛生福利部公告「重金屬檢驗方法總則」進行分析，其所含鉛(Pb)應在1 mg/kg以下。</p> <p>9. Apo-12'-lycopenal：利用高效液相層析法測定檢品中 Apo-12'-lycopenal之含量，應在0.15%以下。</p> <p>(1) Apo-12'-lycopenal標準溶液之配製： 取 Apo-12'-lycopenal標準品約 15</p>	<p>§ 08139 § 09034</p>  <p>分子式：$C_{40}H_{56}$ 分子量：536.9</p> <p>1.含量：本品番茄紅素總含量應在96%以上，全反式番茄紅素(all-<u>trans</u>-lycopene)含量應在70%以上。</p> <p>2.性狀：本品為紅色結晶粉末。</p> <p>3.溶解度：本品不溶於水，易溶於氯仿。</p> <p>4.類胡蘿蔔素檢測：取本品溶解於丙酮中，在加入5%硝酸鈉溶液及1N硫酸溶液後，其呈色會消失。</p> <p>5.溶於氯仿：本品溶於氯仿之1%溶液外觀為澄清、橘紅色。</p> <p>6.光譜光度測定：取本品溶解於己烷中，按照吸光度測定法(附錄A-13)，在波長約470 nm有最大吸光。</p> <p>7.乾燥減重：取本品0.5 g，按照乾燥減重檢查法(附錄A-3)，於40°C，10 mmHg乾燥4小時，其減失重量應在0.5%以下。</p> <p>8.鉛：取本品1.0 g，按照鉛試驗法(附錄A-24)試驗之，其所含鉛(Pb)應在1 mg/kg以下。</p> <p>9. Apo-12'-lycopenal：利用高效液相層析法測定檢品中 Apo-12'-lycopenal之含量，應在0.15%以下。</p>	<p>一、修正「結構式」、「含量」、「類胡蘿蔔素檢測」、「光譜光度測定」、「鉛」、「Apo-12'-lycopenal」、「Triphenyl phosphine oxide (TPPO)」及「含量測定」。</p> <p>二、增列「參考文獻」。</p> <p>三、增修訂部分文字。</p>

mg，精確稱定，置於50 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯(甲苯1000 mL含BHT 0.5 g)定容，量取2 mL置於100 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯定容，供作標準溶液。

(2)檢品溶液之調製：

取檢品約30 mg，精確稱定，置於10 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯定容，置於超音波水浴振盪10分鐘，供作檢品溶液。

(3)移動相溶液之配製：

移動相溶液A：己烷。

移動相溶液B：己烷與三乙胺以99.9：0.1 (v/v)之比例混勻。

移動相溶液C：己烷與四氫呋喃以80：20 (v/v)之比例混勻。

(4)測定法：

精確量取檢品溶液及標準溶液各5 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並以下列計算式求得檢品中

Apo-12'-lycopenal之含量。

檢品中 Apo-12'-lycopenal 之含量

$$(\%) = \frac{A_s \times W_{st} \times 10}{A_{st} \times W_s \times 2500} \times 100$$

A_s ：檢品溶液中 Apo-12'-lycopenal 之波峰面積

A_{st} ：標準溶液中 Apo-12'-lycopenal 之波峰面積

W_{st} ：Apo-12'-lycopenal 標準品之稱重量(mg)

W_s ：檢品之採取量(mg)

10：檢品之稀釋體積(mL)

2500：Apo-12'-lycopenal 標準品之稀釋倍數

高效液相層析條件^(註)：

層析管：Nucleosil Si 100，3 μm，不銹鋼管柱，內徑4.0 mm × 20 cm，或同級品。

可見光檢出器：波長435 nm。

移動相溶液：依(3)所配製之溶液。

A液、B液及C液以下列比例進行梯度分析

(1) Apo-12'-lycopenal 標準溶液之配製：

取 Apo-12'-lycopenal 標準品約15 mg，精確稱定，置於50 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯(甲苯1000 mL含BHT 0.5 g)定容，量取2 mL置於100 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯定容，供作標準溶液。

(2)檢品溶液之調製：

取檢品約30 mg，精確稱定，置於10 mL容量瓶中，以含BHT之甲苯定容，置於超音波水浴震盪10分鐘，供作檢品溶液。

(3)移動相溶液之配製：

移動相溶液A：己烷。

移動相溶液B：己烷與三乙胺以99.9：0.1 (v/v)之比例混勻。

移動相溶液C：己烷與四氫呋喃以80：20 (v/v)之比例混勻。

(4)測定法：

精確量取檢品溶液及標準溶液各5 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並以下列計算式求得檢品中

Apo-12'-lycopenal之含量。

檢品中 Apo-12'-lycopenal 之含量

$$(\%) = \frac{A_s \times W_{st} \times 10}{A_{st} \times W_s \times 2500} \times 100$$

A_s ：檢品溶液中 Apo-12'-lycopenal 之波峰面積

A_{st} ：標準溶液中 Apo-12'-lycopenal 之波峰面積

W_{st} ：Apo-12'-lycopenal 標準品之稱重量(mg)

W_s ：檢品之採取量(mg)

10：檢品之稀釋體積(mL)

2500：Apo-12'-lycopenal 標準品之稀釋倍數

高效液相層析條件：

層析管：Nucleosil Si 100，3 μm，不銹鋼管柱，內徑4.0 mm × 20 cm，或同級品

可見光檢出器：波長435 nm

時間(min)	A%	B%	C%
0	80	20	0
16	60	20	20
22	40	20	40
24.5	80	20	0

移動相流速：2.0 mL/min。

註：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

10. Triphenyl phosphine oxide (TPPO)：利用高效液相層析法測定檢品中TPPO之含量，應在0.01%以下。

(1)Triphenyl phosphine oxide (TPPO)標準溶液之配製：

取TPPO標準品約10 mg，精確稱定，置於1000 mL容量瓶中，以四氫呋喃溶解並定容，供作標準溶液。

(2)檢品溶液之調製：

取檢品約1000 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以四氫呋喃溶解並定容，供作檢品溶液。

(3)移動相溶液之配製：

異丙醇與己烷以1:24 (v/v)之比例混勻。

(4)測定法：

精確量取檢品溶液及標準溶液各50 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並以下列計算式求得檢品中TPPO之含量。

檢品中TPPO之含量(%)

$$= \frac{A_s \times W_{st} \times P_{st} \times 100}{A_{st} \times W_s \times 1000} \times 100$$

A_s ：檢品溶液中TPPO之波峰面積

A_{st} ：標準溶液中TPPO之波峰面積

P_{st} ：TPPO標準品之純度

W_{st} ：TPPO標準品之稱重量(mg)

W_s ：檢品之採取量(mg)

高效液相層析條件^(註)：

層析管：Supelcosil LC-Si，5 μm，不銹鋼管柱，內徑4.6 mm × 15 cm，或同級品。

移動相溶液：依(3)所配製之溶液A液、B液及C液以下列比例進行梯度分析

時間(min)	A%	B%	C%
0	80	20	0
16	60	20	20
22	40	20	40
24.5	80	20	0

移動相流速：2.0 mL/min。

10. Triphenyl phosphine oxide (TPPO)：利用高效液相層析法測定檢品中TPPO之含量，應在0.01%以下。

(1)Triphenyl phosphine oxide (TPPO)標準溶液之配製：

取TPPO標準品約10 mg，精確稱定，置於1000 mL容量瓶中，以四氫呋喃溶解並定容，供作標準溶液。

(2)檢品溶液之調製：

取檢品約1000 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以四氫呋喃溶解並定容，供作檢品溶液。

(3)移動相溶液之配製：

異丙醇與己烷以1:24 (v/v)之比例混勻。

(4)測定法：

精確量取檢品溶液及標準溶液各50 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並以下列計算式求得檢品中TPPO之含量。

檢品中TPPO之含量(%)

$$= \frac{A_s \times W_{st} \times P_{st} \times 100}{A_{st} \times W_s \times 1000} \times 100$$

A_s ：檢品溶液中TPPO之波峰面積

A_{st} ：標準溶液中TPPO之波峰面積

P_{st} ：TPPO標準品之純度

W_{st} ：TPPO標準品之稱重量(mg)

W_s ：檢品之採取量(mg)

高效液相層析條件：

層析管：Supelcosil LC-Si，5 μm，不銹鋼管柱，內徑4.6 mm × 15 cm，或同級品

紫外光檢出器：波長210 nm。
層析管柱溫度：20°C。
移動相溶液：依(3)所配製之溶液。
移動相流速：1.5 mL/min。
註：上述測定條件分析不適時，
依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

11.含量測定：利用高效液相層析法測定檢品中番茄紅素之總含量(%)及全反式番茄紅素之含量(%)。

(1)高效液相層析用番茄紅素標準溶液之配製：

取番茄紅素標準品約6 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以含0.025% BHT之四氫呋喃5 mL溶解，加己烷定容，供作標準溶液。

(2)分光光度用番茄紅素標準溶液之配製：

取高效液相層析用番茄紅素標準溶液5 mL，置於100 mL容量瓶中，以己烷定容，供作標準溶液。

(3)檢品溶液之調製：

取檢品約5 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以含BHT之四氫呋喃5 mL溶解，加己烷定容，供作檢品溶液。

(4)移動相溶液之配製：

以0.15% N-乙基二異丙基胺(N-ethyl-diisopropylamine)之己烷溶液作為移動相溶液。

(5)測定法：

分光光度法：

分光光度用番茄紅素標準溶液以己烷為校正之空白溶液，於波長470 nm測定吸光度，以下列計算式求得標準溶液中番茄紅素之濃度(mg/L)：

$$C_{st}(\text{mg/L}) = \frac{A \times 10000}{3450}$$

C_{st} ：標準溶液中番茄紅素之濃度(mg/L)

A：標準溶液中番茄紅素之吸光度
3450：全反式番茄紅素於己烷中

紫外光檢出器：波長210 nm
層析管柱溫度：20°C
移動相溶液：依(3)所配製之溶液
移動相流速：1.5 mL/min

11.含量測定：利用高效液相層析法測定檢品中番茄紅素之總含量(%)及全反式番茄紅素之含量(%)。

(1)高效液相層析用番茄紅素標準溶液之配製：

取番茄紅素標準品約6 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以含0.025% BHT之四氫呋喃5 mL溶解，加己烷定容，供作標準溶液。

(2)分光光度用番茄紅素標準溶液之配製：

取高效液相層析用番茄紅素標準溶液5 mL，置於100 mL容量瓶中，以己烷定容，供作標準溶液。

(3)檢品溶液之調製：

取檢品約5 mg，精確稱定，置於100 mL容量瓶中，以含BHT之四氫呋喃5 mL溶解，加己烷定容，供作檢品溶液。

(4)移動相溶液之配製：

以0.15% N-乙基二異丙基胺(N-ethyl-diisopropylamine)之正己烷溶液作為移動相溶液。

(5)測定法：

分光光度法：

分光光度用番茄紅素標準溶液以正己烷為校正之空白溶液，於波長470 nm測定吸光度，以下列計算式求得標準溶液中番茄紅素之濃度(mg/L)：

$$C_{st}(\text{mg/L}) = \frac{A \times 10000}{3450}$$

C_{st} ：標準溶液中番茄紅素之濃度(mg/L)

A：標準溶液中番茄紅素之吸光度
3450：全反式番茄紅素於正己烷中之比吸光度($A^{1\%}_{1\text{cm}}$)

10000：換算係數

高效液相層析法：

之比吸光度($A^{1\%}_{1\text{cm}}$)

10000：換算係數

高效液相層析法：

精確量取高效液相層析用番茄紅素標準溶液20 μL ，注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，將番茄紅素所有異構物(全反式番茄紅素、5-cis-番茄紅素、9-cis-番茄紅素及13-cis-番茄紅素)之波峰面積合計，以下列計算式求得標準溶液中番茄紅素之反應係數：

$$\text{RF} = \frac{A_{\text{st}}}{C_{\text{st}} \times 20}$$

RF：番茄紅素之反應係數($\text{AU} \times 1/\text{mg}$)

A_{st} ：番茄紅素所有異構物之波峰面積合計(AU)

C_{st} ：分光光度用番茄紅素標準溶液之番茄紅素濃度(mg/L)

20：以高效液相層析用番茄紅素標準溶液配製分光光度用番茄紅素標準溶液之稀釋倍數

精確量取檢品溶液20 μL ，注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並依下列計算式求得檢品中番茄紅素之總含量(%)：

$$\text{檢品中番茄紅素之總含量}(\%) = \frac{(A_{\text{trans}} + A_{5\text{cis}} + A_{9\text{cis}} + A_{13\text{cis}} + A_{\text{xcis}})}{\text{RF} \times W_s} \times 0.1 \times 100$$

A_{trans} ：全反式番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{5\text{cis}}$ ：5-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{9\text{cis}}$ ：9-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{13\text{cis}}$ ：13-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

A_{xcis} ：其他cis-番茄紅素異構物之波峰面積(AU)

0.1：檢品溶解之體積(L)

RF：標準溶液中番茄紅素之反應係數($\text{AU} \times 1/\text{mg}$)

精確量取高效液相層析用番茄紅素標準溶液20 μL ，注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，將番茄紅素所有異構物(全反式番茄紅素、5-cis-番茄紅素、9-cis-番茄紅素及13-cis-番茄紅素)之波峰面積合計，以下列計算式求得標準溶液中番茄紅素之反應係數：

$$\text{RF} = \frac{A_{\text{st}}}{C_{\text{st}} \times 20}$$

RF：番茄紅素之反應係數($\text{AU} \times 1/\text{mg}$)

A_{st} ：番茄紅素所有異構物之波峰面積合計(AU)

C_{st} ：分光光度用番茄紅素標準溶液之番茄紅素濃度(mg/L)

20：以高效液相層析用番茄紅素標準溶液配製分光光度用番茄紅素標準溶液之稀釋倍數

精確量取檢品溶液20 μL ，注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢品溶液所得波峰滯留時間與標準溶液比較鑑別之，並依下列計算式求得檢品中番茄紅素之總含量(%)：

$$\text{檢品中番茄紅素之總含量}(\%) = \frac{(A_{\text{trans}} + A_{5\text{cis}} + A_{9\text{cis}} + A_{13\text{cis}} + A_{\text{xcis}})}{\text{RF} \times W_s} \times 0.1 \times 100$$

A_{trans} ：全反式番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{5\text{cis}}$ ：5-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{9\text{cis}}$ ：9-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

$A_{13\text{cis}}$ ：13-cis-番茄紅素之波峰面積(AU)

A_{xcis} ：其他cis-番茄紅素異構物之波峰面積(AU)

0.1：檢品溶解之體積(L)

RF：標準溶液中番茄紅素之反應係數($\text{AU} \times 1/\text{mg}$)

W_s ：檢品之採取量(mg)

另依下列計算式求得檢品中全反式番茄紅素之含量(%)：

W_s: 檢品之採取量(mg)

另依下列計算式求得檢品中全反式番茄紅素之含量(%):

檢品中全反式番茄紅素之含量

$$(\%) = \frac{A_{trans} \times 0.1}{RF \times W_s} \times 100$$

高效液相層析條件^(註):

層析管: Nucleosil 300-5, 5 μm, 不銹鋼管柱, 內徑4.0 mm × 25 cm, 2支串聯, 或同級品。

可見光檢出器: 波長470 nm。

層析管注溫度: 20°C。

移動相溶液: 依(3)所配製之溶液。

移動相流速: 0.8 mL/min。

各番茄紅素異構物波峰滯留時間

番茄紅素異構物	波峰滯留時間 (min)	相對波峰滯留時間*
13-cis-番茄紅素	14	0.6
9-cis-番茄紅素	19	0.8
全反式番茄紅素	22	1.0
5-cis-番茄紅素	24	1.1

*相對於全反式番茄紅素

註: 上述測定條件分析不適時, 依所使用之儀器, 設定適合之測定條件。

參考文獻:

FAO. 2009. Lycopene (Synthetic) monograph 7. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.

[http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph7/additive-496-m7.pdf]

檢品中全反式番茄紅素之含量

$$(\%) = \frac{A_{trans} \times 0.1}{RF \times W_s} \times 100$$

高效液相層析條件:

層析管: Nucleosil 300-5, 5 μm, 不銹鋼管柱, 內徑4.0 mm × 25 cm, 2支串聯, 或同級品

可見光檢出器: 波長470 nm

層析管注溫度: 20°C

移動相溶液: 依(3)所配製之溶液

移動相流速: 0.8 mL/min

各番茄紅素異構物波峰滯留時間

番茄紅素異構物	波峰滯留時間 (min)	相對波峰滯留時間*
13-cis-番茄紅素	14	0.6
9-cis-番茄紅素	19	0.8
全反式番茄紅素	22	1.0
5-cis-番茄紅素	24	1.1

*相對於全反式番茄紅素