

話梅中規定外煤焦色素之分析

蘇淑珠* 陳炳宗 李樹其 周薰修

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘要

本研究自民國82年10月至83年5月間於全省各便利商店、超市及百貨公司抽購蜜餞及糖漬果實類檢體193件，依據中國國家標準10889, N6185號中毛線染色之分離鑑別法予以檢驗，結果有142件檢出含著色劑。利用薄層層析法及高效液相層析法分離鑑定，經確認結果其中3件紅色話梅檢體檢出商品名為orange R (C.I. acid orange 14, C.I. 16100)之規定外色素，實驗證明該色素與ponceau 2G (C.I. 16100)相符，不合格率為總抽樣檢體之1.6%，但就紅色話梅而言，不合格率卻高達60%，並業已通知地方衛生機關列入經常抽驗項目。實驗證明薄層層析法之分離效果較濾紙層析法為佳，而高效液相層析法又可進一步確認薄層層析法之結果，故著色劑之再確認宜採薄層層析法及高效液相層析法加以鑑定。

關鍵詞：煤焦色素，橙色 R，話梅。

前言

長久以來，蜜餞因甜中略帶酸味，深為大眾所喜好，但由於有些製造業者對於添加物之使用缺乏正確之觀念，往往僅憑傳統經驗添加非法定色素而導致產生衛生安全之問題。目前我國法定食用煤焦色素計有食用紅色六號、食用紅色七號、食用紅色四十號、食用黃色四號、食用黃色五號、食用綠色三號、食用藍色一號及食用藍色二號等八種⁽¹⁾，均屬水溶性之酸性煤焦色素。本局歷年來有關蜜餞類之著色劑調查報告^(2,3)中曾檢出rhodamine B及orange II等規定外色素；另外本局受理各縣市衛生局之抽驗案中，曾在紅色話梅中檢出規定外色素，當時因無對照標準品無法確認，而以『檢出規定外紅色色素陽性』結案。角田等(1986)曾報導，由台灣輸日本之話梅中含有食品衛生法規定外之色素，並證實係屬於monoazo染料之ponceau 2G⁽⁴⁾。為了解市售蜜餞及糖漬果實類中著色劑之使用現況，乃進行本抽樣調查及

分析檢驗，並將結果提供有關單位之參考。

材料與方法

一、材料

(一)蜜餞及糖漬果實類檢體來源

自民國82年10月至83年5月間於全省北、中、南及東四區之便利商店、超市及百貨公司抽購蜜餞149件，糖漬果實類44件，共計193件，其中北區73件，中區37件，南區45件及東區38件。

(二)試藥及材料

標準品

食用紅色六號(new coccin, C.I. 16255, 簡稱R6), 食用紅色七號(erythrosine, C.I. 45430, 簡稱R7), 食用紅色四十號(allura red AC, C.I. 16035, 簡稱R40), 食用黃色四號(tartrazine, C.I. 19140, 簡稱Y4), 食用黃色五號(sunset yellow FCF, C.I. 15985, 簡稱Y5), 食用綠色三號(fast green FCF, C.I. 42053, 簡稱G3), 食用藍

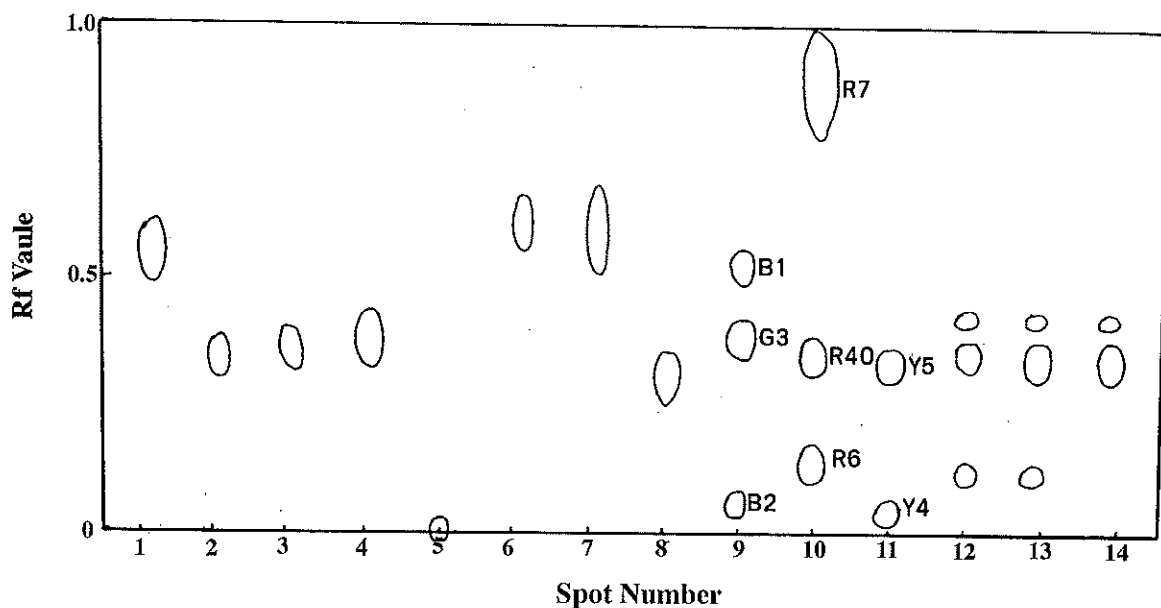


Figure 1. Paper chromatogram of the dyes in "Hwamei samples" and standard coal tar dyes. Developing system: n-butanol:ethanol:0.5N acetic acid (6:2:3).

spot 1: α -naphthol yellow,
spot 3: ponceau R,
spot 5: ponceau 6R,
spot 7: ponceau S,
spot 9: B2, G3 and B1,
spot 11: Y4 and Y5,
spot 13: sample No. 96,

spot 2: ponceau SX,
spot 4: ponceau 3R,
spot 6: crocein orange G,
spot 8: orange GGN,
spot 10: R6, R40 and R7,
spot 12: sample No. 91,
spot 14: sample No. 172.

色一號(brilliant blue FCF, C.I. 42090, 簡稱 B1), 食用藍色二號(indigo carmine, C.I. 73015, 簡稱B2), ponceau SX (C.I. 14700), ponceau 3R (C.I. 16155), crocein orange G (C.I. 15970), α -naphthol orange (C.I. 14600), ponceau 6R (C.I. 16290)及ponceau S (C.I. 15635)以上標準品購自東京化成工業株式會社(日本)。Ponceau R (C.I. 16150)購自Sigma Chemical Company (USA)。Orange GGN購自Chroma-Gesellschaft Schmid GmbH & Co.(Germany)。Orange R (C.I. 16100)購自K. C. Co. (Japan)。

二、實驗方法

(一)濾紙層析法(PC)

依據中國國家標準10889, N6185號中毛線染色之分離鑑別法⁽⁵⁾, 利用層析用濾紙(filter paper No.50, Toyo, Japan)予以檢驗, 展開溶媒為(1)正丁醇:乙醇:0.5N氨水(6:2:3, v/v/v)及(2)正丁醇:乙醇:0.5N醋酸(6:2:3, v/v/v), 疑有規定外

煤焦色素者, 再利用下列方法作進一步確認。

(二)薄層層析法(TLC)

採用矽膠薄層板(silica gel 60, Art.5721, E. Merck, Germany)及纖維素薄層板(cellulose F, Art. 5718, E. Merck, Germany)分離鑑別⁽⁵⁾。展開溶媒為(1)正丁醇:乙醇:0.5N醋酸(6:2:3, v/v/v), (2)醋酸乙酯:甲醇:28%氨水(3:1:1, v/v/v)及(3)正戊醇:乙醇:28%氨水(10:10:1, v/v/v)。

(三)分光光度測定法

刮取經TLC分離後之色素, 以0.02N醋酸鉍溶解, 利用分光光度計(Spectronic 3000 Array spectrophotometer, Milton Roy Company, USA)於可視部測定吸收光譜。

(四)高效液相層析法(HPLC)

將PC所得之檢液, 依據著者等所建立之HPLC條件⁽³⁾, 採線性梯度遞變方式(linear gradient program)分離, 於254 nm偵測, 並利用光電二極體陣列(photodiode array)檢測器鑑別。

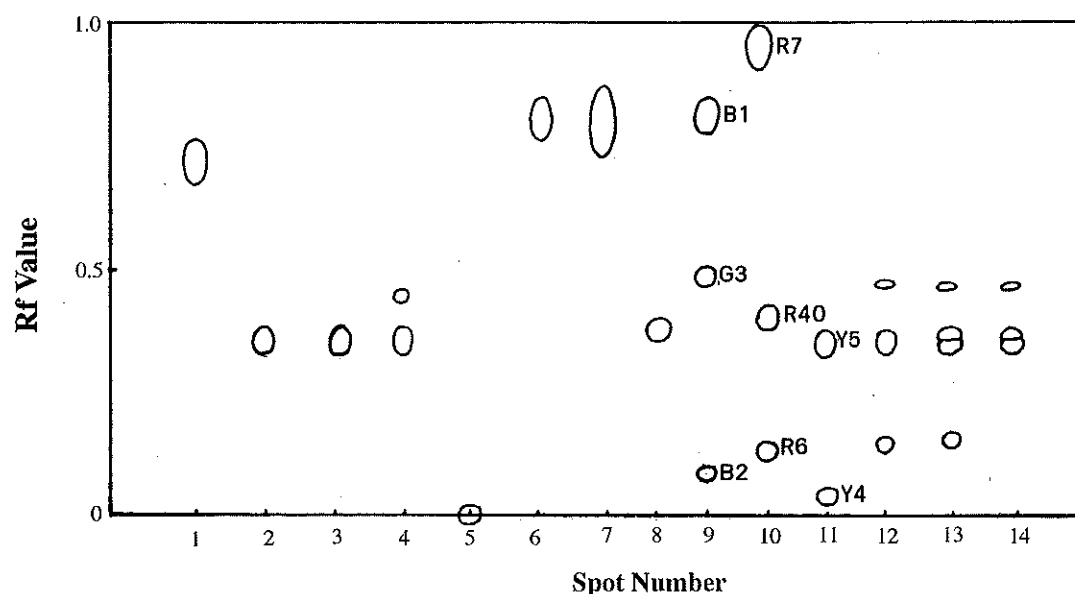


Figure 2. Thin layer chromatogram of the dyes in "Hwamei samples" and standard coal tar dyes on cellulose plate.

Developing system: n-butanol: ethanol:0.5N acetic acid (6:2:3). Spots 1~14 were the same as in Figure 1.

Table 1. Results of coal tar dyes in preserved fruits and syrupy fruits obtained from markets

Sample	No. of samples	No. of samples with coal tar dyes	No. of samples with orange R	Ratio of violation (%)
Preserved fruits	149	113	3	2.0
Syrupy fruits	44	29	0	0
Total	193	142	3	1.6

HPLC之分析條件：

高效液相層析儀：Waters 600E System Controller, USA.

檢出器：UV 254 and Photodiode Array UV-VIS Detector, Shimadzu Corporation, Japan.

層析管：Cosmosil packed column, 5 μ m, 150 X 4.6 mm i.d., Nacalai Tesque Inc., Japan.

移動相：(A) 0.005M tetrabutylammonium hydrogen sulfate (購自Waters, USA),

(B) methanol, 依線性梯度沖提方式，A液在10分鐘內由最初之56%遞減至40%，接著再於10分鐘內由40%遞減至最終為0%；於此同時B液在10分鐘內由最初之44%遞增至60%，接著再於10分鐘內由60%遞增至最終為100%。

流速：1 ml/min。

(五)紅外線吸收光譜測定法(IR)

刮取經TLC分離後之色素，以甲醇溶解，

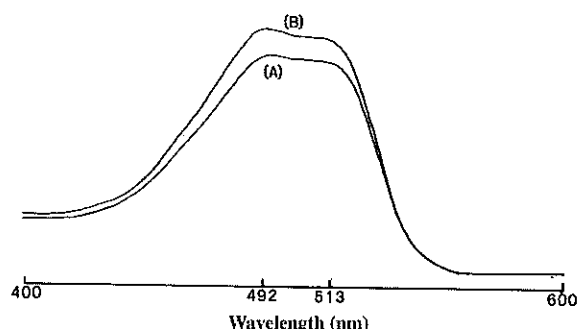


Figure 3. Visible absorption spectra of (A) standard Orange R, (B) sample No.91, solvent: 0.02N ammonium acetate.

過濾後濃縮至乾，利用紅外線吸收光譜儀(Nicolet 510P FT-IR, USA)，以溴化鉀錠劑法測定其紅外線吸收光譜。

(六)原子吸收光譜測定法(AAS)

將色素經炭化及灰化後，以3N HCl溶解，利用偏極化茲曼原子吸收光譜儀(Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer, Model Z-6100, Japan)於589 nm鑑別其鈉鹽。

結果與討論

一、檢體狀況

在193件檢體中檢出含著色劑者142件，其中5件紅色話梅檢體中有3件檢出規定外色素，不合格率1.6%(Tab.1)。在178件包裝檢體，標示與規定相符者50件(28.1%)，未標示使用著色劑而檢出者76件(42.7%)，僅記載食用色素而未載明著色劑種類或檢出之著色劑與標示不符者有48件(27.0%)，未標示製造日期或保存期限者僅4件(2.2%)，而標示製造日期或保存期限之檢體皆未超過保存期限。

二、話梅檢體中規定外不明色素之鑑別

角田等⁽⁴⁾曾證明台灣話梅檢出之規定外色素屬於monoazo染料之ponceau 2G (C.I. 16100)，而日本已停止生產該染料，故於確定其化學結構後，再將2-naphthol-3, 6-disulfonic acid及aniline經diazo coupling合成ponceau 2G以確認。本研究亦發現話梅檢體檢出疑似ponceau 2G之規定外色素，因無法取得對照標準

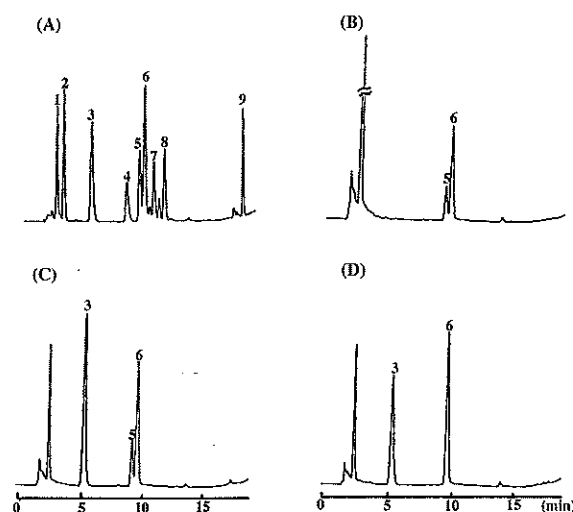


Figure 4. HPLC chromatograms of the dyes in "Hwamei samples" and standard coal tar dyes.

(A) standards, (B) sample No.91, (C) sample No.96 and (D) sample No.172.

peak 1: B2, peak 2: Y4, peak 3: Y5, peak 4: R40, peak 5: R6, peak 6: Orange R, peak 7: G3, peak 8: B1 and peak 9: R7.

品。因此分別以濾紙層析法、薄層層析法、分光光度法及高效液相層析法將話梅中之規定外色素予以分離鑑別，將結果與角田等⁽⁴⁾之報導比較。

(一)濾紙層析法(PC)

檢體依中國國家標準食品中煤焦色素檢驗方法，以毛線染色法抽出色素，再利用濾紙層析法分別以(1)正丁醇：乙醇：0.5N氨水(6:2:3, v/v/v)及(2)正丁醇：乙醇：0.5N醋酸(6:2:3, v/v/v)兩種溶媒展開。與八種規定內煤焦色素比較結果編號91之話梅檢體於Y5之Rf值附近有一橘紅色斑點(Fig.1)，顏色稍異於Y5，此結果與角田等之報導相符。另外編號96及172等二件紅色話梅檢體在Y5之Rf值亦有同樣斑點，但顏色幾乎與Y5一致。除此之外編號91及96另檢出R6，而角田等所檢測之話梅檢體僅有ponceau 2G。另取ponceau SX, ponceau R, ponceau 3R, ponceau 6R, crocein orange G、ponceau S、orange GGN及 α -naphthol orange等8種規定外色素依同樣條件分離，結果ponceau SX, ponceau R, ponceau 3R及orange GGN等之Rf值與檢體編號91的橘紅色斑點很近(Fig.1)，但斑點之

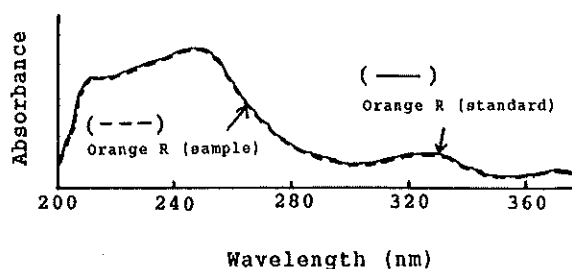


Figure 5. Photodiode array spectra of chromatographic peak of Orange R in No.91 sample compared with standard from Figure 4.

顏色有異。PC因展開時間長且容易有拖尾現象等缺點，日本衛生試驗法注解(1990)僅收載薄層層析法⁽⁶⁾，而中國國家標準⁽⁵⁾及本局常用食品檢驗方法專輯⁽⁷⁾中則同時記載PC及TLC兩種方法，著者等亦曾比較PC及TLC，結果TLC之分離效果及感度皆較PC為佳⁽³⁾，因此再以TLC進行探討。

(二)薄層層析法(TLC)

將上述方法所得檢液以纖維素為擔體，利用正丁醇：乙醇：0.5N醋酸(6:2:3, v/v/v)展開，結果編號96及172等二件檢體，緊鄰著橙黃色Y5之下方有橘紅色斑點，編號91則僅呈現橘紅色，由此可以推測編號96及172等二件檢體可能有Y5及規定外色素，而編號91僅有橘紅色斑點，同時比主色素之Rf值稍高處均有一副色素，此結果亦與角田等之結果一致，可見TLC之感度及展開效果均較PC(編號96及172二件檢體在PC上皆只有一個斑點)為佳。除此之外編號91及96另檢出R6。取上述八種規定外色素依同樣條件分離，結果各色素斑點及Rf值皆與該規定外色素有異(Fig.2)。

(三)分光光度法

刮取編號91話梅檢體經上述TLC條件展開所得之橘紅色斑點，以0.02N醋酸銨溶解，過濾後於400~600 nm測定吸收光譜，結果(Fig.3B)於492及513 nm處有最大吸收，與角田等之結果(491及512 nm)⁽⁴⁾相當近似。參考日本衛生試驗法注解收載之48種酸性煤焦色素之可視部吸收光譜，與該色素相近者有食用紅色四十號、ponceau SX, crocein orange G及orange GGN，但此等色素於TLC展開時已確認色素顏色及Rf值皆與該色素有異。

(四)高效液相層析法(HPLC)

將檢液依照作者等建立之線性梯度遞變方

法⁽³⁾進行HPLC分析，經與八種法定食用色素之標準品比對結果(Fig.4)，編號91檢出R6，編號96檢出R6及Y5，編號172檢出Y5，此外三件檢體皆有滯留時間與orange R相同之波峰(peak 6)，層析圖譜之分離效果相當良好，如此更可確認TLC之鑑別效果。

三、規定外色素orange R之確定

商品名為orange R之化工原料色素，經以(1)TLC：矽膠薄層板，展開溶媒：(a)醋酸乙酯：甲醇：28%氨水(3:1:1, v/v/v)及(b)正戊醇：乙醇：28%氨水(10:10:1, v/v/v)，(2)分光光度測定法，(3)HPLC，(4)IR及(5) AAS等方法進行確認比對，結果(1)TLC部份，orange R之Rf值及顏色皆與話梅檢體之規定外色素一致，比主色素之Rf稍高處亦有一副色素。(2)分光光度計測定結果(Fig.3A)吸收圖譜與編號91話梅檢體一致，且於492及513 nm處有最大吸收，與角田等⁽⁴⁾之結果(491及512 nm)近似。(3)HPLC圖譜(Fig.4)顯示orange R (peak 6)之滯留時間與檢體之規定外色素一樣，進一步以光電二極體陣列檢出器(Photodiode Array Detector)鑑別亦得到相同之吸收光譜(Fig.5)。(4)兩者之IR圖譜(Fig.6)亦一致，1100~1300 cm^{-1} 有兩個sulfonate伸展區(stretch)，1400~1450 cm^{-1} 有較弱之-N=N-(azo)吸收，1500~1600 cm^{-1} 係C=C環伸展區，3200~3600 cm^{-1} 則為O-H伸展區。另外以(5)AAS於589 nm測定orange R結果呈鈉鹽陽性。綜合上述結果，紅色話梅中之規定外色素確定為orange R，亦即為ponceau 2G，其化學名為1-phenylazo-2-naphthol-3,6-disulfonic acid disodium salt, Fig.7為orange R之化學構造式。經查orange R係C.I. acid orange 14 (C.I. 16100)之商品名，該品乃供染布及染紙用⁽⁸⁾，世界各國皆不准使用於食品。

結 論

本研究中來自不同製造廠之5件紅色話梅檢體中有3件檢出orange R之規定外色素，不合格率佔總件數193件之1.6%，但就紅色話梅檢體而言，不合格率卻高達60%，值得重視。為了維護消費者之健康，本研究結果已轉知地方衛生機關列入經常抽驗項目。至於包裝檢體之標示方面只有28.1%與規定相符，顯示製造業

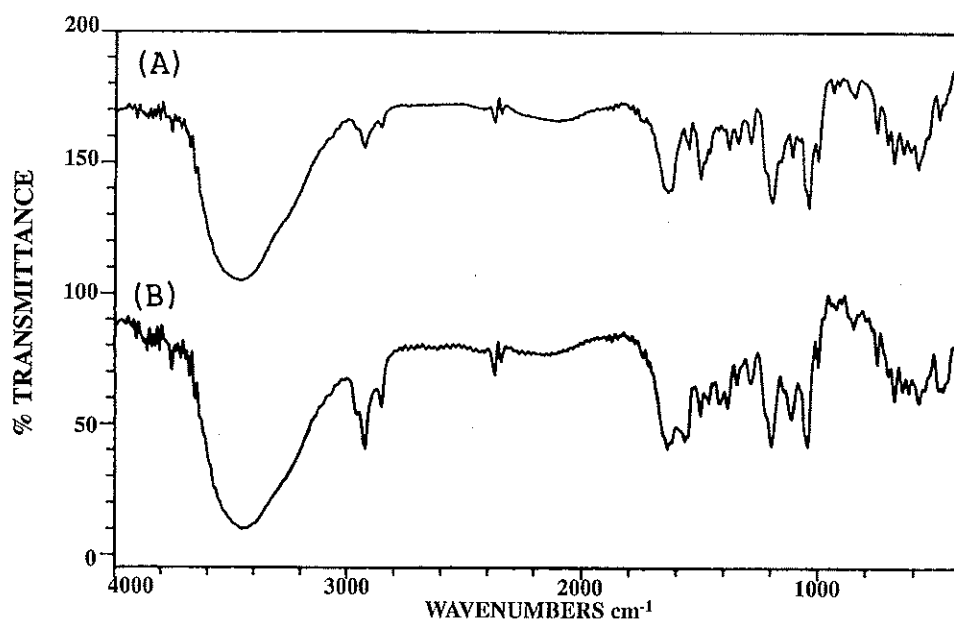
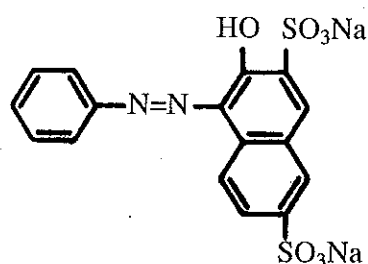


Figure 6. Infrared spectra of (A): standard Orange R, (B): sample No.91.



1-Phenylazo-2-naphthol-3,6-disulfonic acid disodium salt

Figure 7. Structure of Orange R.

者對標示之認知有待加強。

PC無法分離Y5及orange R，而以TLC展開後橙黃色Y5之下方很明顯有橘紅斑點，可見TLC之分離效果較PC為佳。HPLC可進一步確認TLC之結果，雖然PC較便宜，但因展開時間長且容易有拖尾現象，日本衛生試驗法注解僅收載TLC⁽⁶⁾，為了提昇分析檢驗水準，增加檢驗結果之可信度，著色劑宜採TLC及HPLC加以鑑定。

誌 謝

本研究承蒙本局陳大雅及黃文延鼎力協助，特此誌謝。

參考文獻

1. 行政院衛生署。1987。食品添加物使用範圍及用量標準。76.7.22 衛署食字第662683號公告。
2. 蔡英一、王素蘭。1987。臺灣地區兒童食品中煤焦色素之調查。行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報 5: 248-249。
3. 程俊龍、黃春子、蘇淑珠、李樹其。1991。食品中規定外煤焦色素分離鑑別方法之探討。行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報 9: 217-228。
4. 角田光淳, 井上典子, 伊藤博, 長谷部昭九。1986。輸入食品より檢出したボンソ -2G について。食衛誌。27(3): 296-301。
5. 經濟部中央標準局。1987。食品中色素之檢驗方法。中國國家標準 10889, N6185號。
6. 日本藥學會。1990。著色料。日本衛生試驗法注解。pp. 500-547。金原出版株式會社。東京。
7. 常用食品檢驗方法專輯(一)。1988。食品中著色劑(煤焦色素)之檢驗方法。45-69頁。行政院衛生署藥物食品檢驗局出版。
8. Society of Dyers and Colourists. 1970. Color Index, 3rd ed., 1: 1077.

Determination of Illegal Coal Tar Dye in "Hwamei"

SHU-CHU SU*, BING-TUNG CHEN, SHU-CHI LI AND SHIN-SHOU CHOU

Division of Food Chemistry, National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan.

ABSTRACT

One hundred and ninety three samples of syrupy fruits (44) and preserved fruits (149) were analyzed for coal tar dyes. Samples were assessed according to official methods and high performance liquid chromatography during a period from October 1993 to May 1994. The results confirmed that three "Hwamei" samples (1.6%)

contained additives of orange R (C.I. acid orange 14, C.I. 16100) which violate the current approved standards. It also was identified as pon-ceau 2G. For identifying coal tar dyes, TLC was found to be a more sensitive method compared to PC, and HPLC was used to further confirm the results of TLC.

Key words: Illegal coal tar dye, orange R, Hwamei, identification.

