

食品中防腐劑之檢驗方法

Methods of Test for Preservatives in Food

1. 適用範圍：本檢驗法適用於食品中防腐劑之檢驗。

2. 檢驗方法：

2.1. 薄層層析法 (Thin Layer Chromatography)：適用於食品中所含苯甲酸及其鹽類，己二烯酸及其鹽類，去水醋酸及其鹽類，對羥苯甲酸及其酯類，水楊酸及其鹽類之鑑別試驗。

2.1.1. 裝置：

2.1.1.1. 紫外燈：具 254 nm 之波長。

2.1.1.2. 水蒸氣蒸餾裝置。

2.1.1.3. 展開槽。

2.1.1.4. 減壓濃縮裝置。

2.1.2. 試藥：

正己烷、醋酸、苯、甲醇、硫酸鐵、溴甲酚綠 (Bromocresol green)、胺基苯磺酸 (Sulfanilic acid)、亞硝酸鈉、氫氧化鈉、酒石酸、氯化鈉、乙醚、鹽酸、乙醇、無水硫酸鈉、異丙醇均採用試藥級。

2.1.3. 器具及材料：

2.1.3.1. 毛細管。

2.1.3.2. 分液漏斗。

2.1.3.3. 聚醯胺薄層板：薄層層析用聚醯胺加異丙醇混合均勻成糊狀，以常法作成 0.15 ~ 0.30 mm 厚度之薄層後風乾，再以 60 ~ 70 °C 乾燥 30 分鐘，置於乾燥器內冷卻備用。

2.1.4. 展開溶媒：

2.1.4.1. 正己烷：醋酸 (20 : 0.7)。

2.1.4.2. 苯：醋酸 (20 : 0.5)。

2.1.4.3. 苯：甲醇：醋酸 (20 : 0.2 : 0.5 或 20 : 0.5 : 0.3)。

2.1.5. 發色液：

2.1.5.1. 2% 硫酸鐵溶液。

2.1.5.2. 0.1% 溴甲酚綠乙醇溶液。

2.1.5.3. 重氮-胺基苯磺酸 (Diazo-sulfanilic acid) 溶液：稱取胺基苯磺酸 1 g，加鹽酸 8 ml，加熱溶解後，加水至 100 ml，此溶液再加同容量之 0.7% 亞硝酸鈉溶液。

2.1.6. 標準溶液之調製：

苯甲酸 (Benzoic acid)，去水醋酸 (Dehydroacetic acid) (標準品或試藥級) 各調製成 1% (w/v) 之丙酮溶液；己二烯酸 (Sorbic acid)，對羥苯甲酸酯類 (Esters of p-Hydroxybenzoic acid)，水楊酸 (Salicylic acid) (標準品或試藥級) 各調製成 0.2% (w/v) 之丙酮溶液。

2.1.7. 檢液之調製：

固狀檢體細切後稱取 10 ~ 20 g，液狀檢體量取 10 ~ 20 ml，(若含酒精檢體，加 1% 氫氧化鈉溶液，使 pH 值為 7.0 ~ 7.5，加熱去除酒精)，置於 500 ml 之蒸餾瓶中，加適量

防腐劑檢驗方法

之水及 15 % 酒石酸溶液使呈酸性，(pH 值約 2)，加氯化鈉 30 g，以水蒸氣蒸餾之，收集約 100 ml 之餾出液 (餾出速度每分鐘約 10 ml)，移入分液漏斗中，以 10 % 氫氧化鈉溶液使呈鹼性，加乙醚 30 ml 振搖，充分混合，靜置後去除乙醚層，水層以 10 % 鹽酸溶液使呈酸性，加 30 ~ 50 ml 之乙醚萃取，取乙醚層以每次 5 ml 之水振搖洗滌三次後乙醚層加入適量之無水硫酸鈉，放置 15 分鐘後過濾，取濾液於 20 ~ 30 °C 減壓濃縮，殘留物溶於 0.1 ~ 0.3 ml 乙醇，供作檢液。

2.1.8. 鑑別試驗：

沿聚醯胺薄層板下端 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，風乾後展開，展開溶媒浸沒薄層板下端 0.5 ~ 1 cm，展開高度約 12 cm 後取出風乾，依下法以紫外燈照射檢視定位及發色液噴霧呈色，並按檢液上昇之斑點位置及顏色與標準溶液比較鑑別之：於紫外燈下照射檢視各檢液及標準溶液之斑點位置，以鉛筆標記之，再選用適當之 2.1.5.1. 節、2.1.5.2. 節或 2.1.5.3. 節發色液噴霧使其呈色，如選用 2.1.5.3. 節發色液噴霧後，須再噴霧 10 % 氫氧化鈉溶液。

各種防腐劑適用之展開溶媒、發色液及其斑點顏色

防腐劑名稱	展 開 溶 媒	發 色 液	斑 點 顏 色
苯 甲 酸	2.1.4.1. 節或 2.1.4.2. 節	2.1.5.2. 節	綠色背景、黃色斑點
己 二 烯 酸	2.1.4.1. 節或 2.1.4.2. 節	2.1.5.2. 節	綠色背景、黃色斑點
對 羥 苯 甲 酸	2.1.4.1. 節或 2.1.4.2. 節	2.1.5.3. 節，10 % NaOH	無色→黃色
去 水 醋 酸	2.1.4.1. 節	2.1.5.1. 節	黃色
		2.1.5.2. 節	綠色背景、黃色斑點
對羥苯甲酸酯類	2.1.4.3. 節	2.1.5.3. 節，10 % NaOH	淡橙色
水 楊 酸	2.1.4.1. 節或 2.1.4.2. 節 或 2.1.4.3. 節	2.1.5.1. 節	藍色
		2.1.5.2. 節	綠色背景、黃色斑點
		2.1.5.3. 節，10 % NaOH	無色→黃色

2.2. 氣相層析法 (Gas Chromatography)

2.2.1. 第一法：適用於食品中所含苯甲酸及其鹽類、己二烯酸及其鹽類，去水醋酸及其鹽類，對羥苯甲酸及其酯類、水楊酸及其鹽類之鑑別試驗及含量測定。

2.2.1.1. 裝置：

2.2.1.1.1. 氣相層析儀：

2.2.1.1.1.1. 檢出器：氫焰離子檢出器 (Flame Ionization Detector)。

2.2.1.1.1.2. 層析管：內徑 3 ~ 4 mm，長度 2 m 之玻璃管或不銹鋼管。

2.2.1.1.1.3. 層析管用填充劑：

(1) Chromosorb W (60 ~ 80 mesh) 上覆被有 DEGS (Diethylene glycol succinate) 5 % 及磷酸 1 %。

(2) Chromosorb W (60 ~ 80 mesh) 上覆被有 NPGS (Neopentyl glycol succinate) 10 % 及磷酸 1 %。

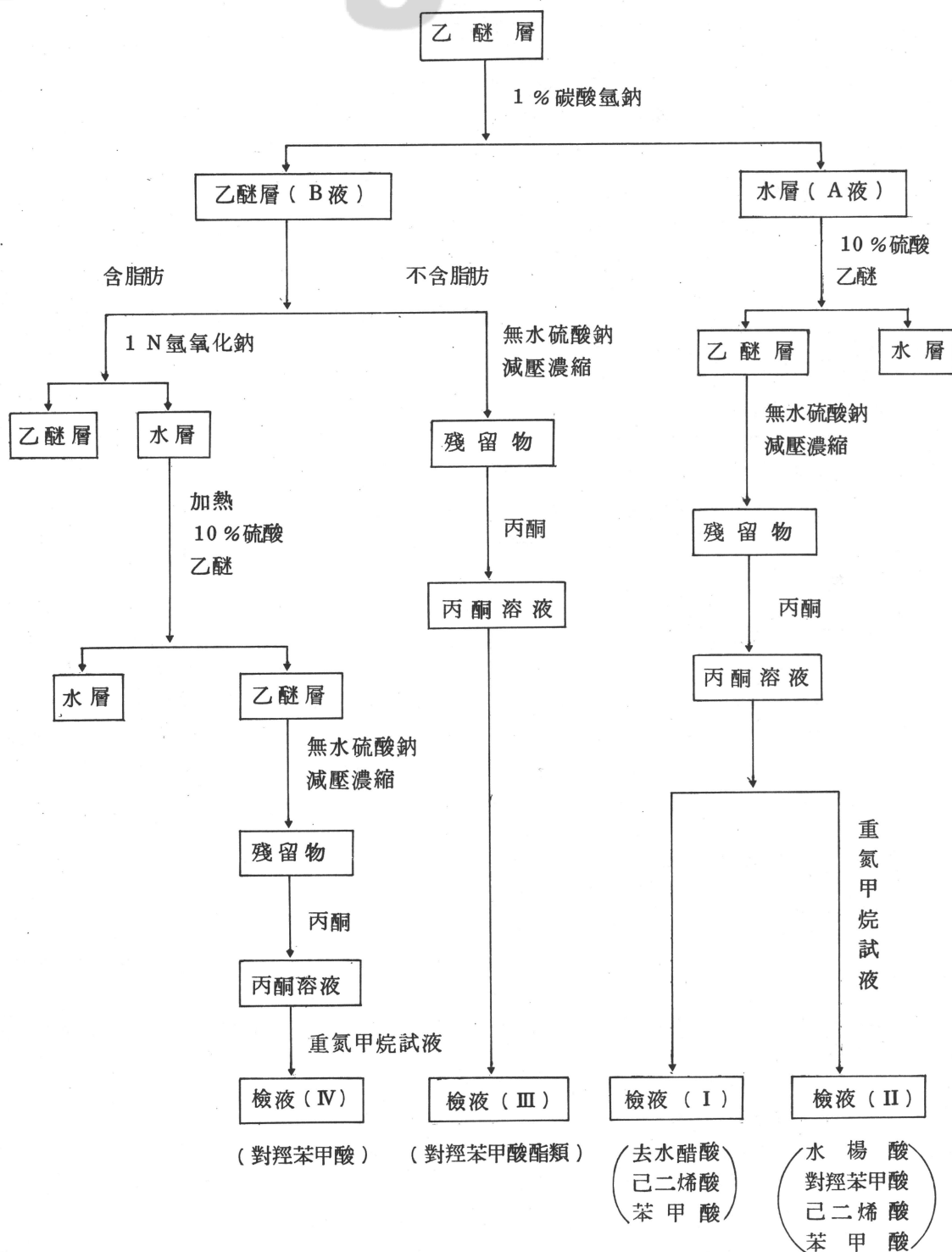
(3) Chromosorb W (60 ~ 80 mesh) 上覆被有 Silicon SE 30 3 %。

藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. FDB)

- 2.2.1.1.2. 減壓濃縮裝置。
- 2.2.1.1.3. 水蒸氣蒸餾裝置。
- 2.2.1.1.4. 攪拌均質器：具 200 ml 容量均質杯且外圍可冷却者。
- 2.2.1.2. 試藥：
- 2.2.1.2.1. 磷酸、丙酮、硫酸鈉、硫酸、乙醚、碳酸氫鈉、氫氧化鈉、鹽酸、酒石酸、氯化鈉、N-甲基-N-亞硝基-P-甲苯磺醯胺 (N-methyl-N-nitroso-P-toluenesulfonamide) 均採用試藥特級。
- 2.2.1.2.2. 重氮甲烷 (Diazomethane) 試液之調製：
於抽氣櫃中設一蒸餾裝置，其蒸餾瓶盛有 1 g 氫氧化鉀溶於 1.6 ml 水及 5 ml 乙醇之溶液，其冷却管之末端須浸入盛有 5 ml 乙醚之共栓燒瓶受液器乙醚之液面下，受液器並以冰水冷却。取 N-甲基-N-亞硝基-P-甲苯磺醯胺 4.3 g，溶於 26 ml 乙醚後徐徐注入蒸餾瓶中，置於 65 °C 水浴上蒸餾，收集餾出液約 20 ml，臨用時調製。
- 2.2.1.3. 器具及材料：
- 2.2.1.3.1. 水浴。
- 2.2.1.3.2. 分液漏斗。
- 2.2.1.4. 標準溶液之調製：
精確稱取苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸、對羥苯甲酸及其酯類、水楊酸 (標準品或試藥級) 各 50 mg，分別溶於丙酮使成 100 ml 。
- 2.2.1.5. 檢液之調製：
- 2.2.1.5.1. 檢體之處理：可用溶劑抽出法或水蒸氣蒸餾抽出法任選其一調製檢液。
- 2.2.1.5.1.1. 溶劑抽出法：
固狀檢體經細切後精確稱取 10 ~ 25 g，放入均質杯中，加入硫酸鈉飽和溶液 25 ml，以 10 % 硫酸使呈酸性，再加 150 ml 乙醚，於冰水冷却下均質攪拌約 5 分鐘後靜置，取乙醚層，水層再以每次 100 ml 乙醚反覆操作均質攪拌萃取二次，合併乙醚層。液狀檢體精確稱取 10 ~ 25 g 直接放入分液漏斗中，加入硫酸鈉飽和溶液 25 ml，以 10 % 硫酸使呈酸性，再以每次 100 ml 之乙醚萃取三次，合併乙醚層。
- 2.2.1.5.1.2. 水蒸氣蒸餾抽出法：
固狀檢體細切或磨碎後精確稱取 30 ~ 100 g，加水 50 ~ 100 ml 充分攪拌混合，液狀檢體精確稱取 30 ~ 100 g，以 10 % 氫氧化鈉溶液或 10 % 鹽酸溶液中和，移入 1000 ml 之圓底燒瓶中，加入 15 % 酒石酸溶液 5 ml，氯化鈉 80 g 及矽樹脂 (Silicon resin) 1 滴後加水至全量為 150 ~ 200 ml，以每分鐘約 10 ml 之餾出速度進行水蒸氣蒸餾，取餾出液 500 ml 移至分液漏斗內，加 10 % 硫酸使呈酸性，加硫酸鈉至飽和後，以每次 100 ml 乙醚萃取三次，合併乙醚萃取液。
- 2.2.1.5.2. 萃取液之處理：
將 2.2.1.5.1. 節之乙醚層，置於 500 ml 之分液漏斗中，加入硫酸鈉飽和溶液 30 ml，輕輕振搖混合洗滌後去除洗液，加 1 % 碳酸氫鈉溶液 50 ml，振搖萃取，取出水層，其乙醚層部份，反覆操作一次，合併水層為 A 液，(A 液可能含有己二烯酸，去水醋酸、苯甲酸、水楊酸及對羥苯甲酸)，乙醚層為 B 液 (B 液可能含對羥苯甲酸酯類)。

防腐劑檢驗方法

萃取液處理之操作步驟：



藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. FDB)

A液以10% 硫酸使呈酸性，加入硫酸鈉至飽和後，以每次50ml 乙醚萃取三次，合併乙醚層，以無水硫酸鈉脫水，經過濾後，取濾液在40℃ 以下減壓濃縮至將乾涸時，加入丙酮使全量為5.0 ml 供作檢驗去水醋酸及初步鑑定己二烯酸，苯甲酸之檢液 (I)，取檢液 (I) 及水楊酸，對羥苯甲酸，己二烯苯甲酸之標準溶液各2.0 ml，分別加入重氮甲烷試液2 ml，放置30分鐘以上，供作檢驗水楊酸，對羥苯甲酸、己二烯酸、苯甲酸之檢液 (II)。

B液如為不含脂肪之檢體時，以無水硫酸鈉脫水，過濾後，取濾液在40℃ 以下減壓濃縮至將乾涸時，加入丙酮使全量為5.0 ml 供作檢驗對羥苯甲酸酯類之檢液 (III)。

B液如為含脂肪之檢體時，加入1 N 氫氧化鈉溶液50 ml，振搖混合後，取出水層，其乙醚層部分反覆操作一次，合併水層，在沸騰之水浴中加熱15分鐘，冷卻後以10% 硫酸使呈酸性，加入硫酸鈉至飽和後，以每次30ml 乙醚萃取三次，合併乙醚層，以無水硫酸鈉脫水，經過濾後，取濾液在40℃ 以下減壓濃縮至將乾涸時，加入丙酮，使全量為5.0 ml，此溶液及對羥苯甲酸標準溶液5.0 ml，分別加入重氮甲烷試液5.0 ml，放置30分鐘以上，供作檢驗總對羥苯甲酸之檢液 (IV)。

2.2.1.6. 鑑別試驗及含量測定：

檢液 (I)、(III) 及各該標準溶液各取5 μl，檢液 (II)、(IV) 各取5 μl，分別注入氣相層析儀，依下列條件作氣相層析，就檢液所得波峰 (Peak) 之滯留時間 (Retention time) 分別與各該標準溶液比較鑑別之。並依另取之各該防腐劑之標準溶液按上述方法做成檢量線，求出檢體中防腐劑之含量。

氣相層析法之條件：

氣相層析用檢液	層析管填充劑	層析管溫度 (°C)	檢出器及注入器溫度 (°C)	移動相氣體 (N ₂) 流量 (ml/min)
(I)	(1)	140	210	60
	(2)	150	210	60
(II) 及 (IV)	(1)	170	220	60
	(3)	170	220	60
(III)	(1)	200	230	60
	(3)	170	220	30

2.2.2. 第二法：適用於食品中丙酸及其鹽類之鑑別試驗及含量測定。

2.2.2.1. 裝置：

2.2.2.1.1. 氣相層析儀：

2.2.2.1.1.1. 檢出器：氫焰離子檢出器。

2.2.2.1.1.2. 層析管：內徑3~4 mm，長2~3 m之玻璃管。

2.2.2.1.1.3. 層析管用填充劑：Chromosorb 101 (60~80 或 80~100 mesh)。

2.2.2.1.2. 水蒸氣蒸餾裝置：冷卻管之末端接管使達於500 ml 容量瓶之底部。

2.2.2.1.3. 減壓濃縮裝置。

2.2.2.2. 試藥：

防腐劑檢驗方法

氫氧化鈉、氯化鈉、磷酸、甲醇、硫酸均採用試藥特級。

強酸性離子交換樹脂：100～200 mesh，H型，以水洗過。(註一)。

2.2.2.3. 器具及材料：

離子交換樹脂層析管：直徑10 mm，可供填充高度25～30 mm之玻璃管。

2.2.2.4. 標準溶液之調製：

2.2.2.4.1. 丙酸標準溶液：精確稱取丙酸(Propionic acid)(標準品或試藥級)1000mg 溶於水使成100 ml，臨用時調製。

2.2.2.4.2. 丁烯-2-酸標準溶液：精確稱取丁烯-2-酸(Crotonic acid)(標準品或試藥級)2000mg 溶於水使成100 ml，臨用時調製。

2.2.2.5. 檢液之調製：

精確稱取切細之檢體40～80 g(含丙酸100～200 mg)置於1000 ml之蒸餾瓶中，加水200 ml，氯化鈉80 g，10%磷酸溶液10ml及矽樹脂一滴，以每分鐘約10ml之餾出速度，進行水蒸氣蒸餾。以盛有1%氫氧化鈉溶液20ml之500 ml容量瓶收集餾出液約500 ml時，停止蒸餾，加水至500 ml。正確吸取餾出液25ml，放入濃縮瓶中，減壓濃縮至乾涸，殘留物以2 ml水溶解，俟離子交換樹脂層析管中樹脂上部之水將流盡時(流速1 ml/1～2 min)，再將濃縮瓶中之溶液沿管壁慢慢注入層析管中，所流出之檢液滴入盛有丁烯-2-酸標準溶液1.0ml之10ml容量瓶，濃縮瓶再以2 ml之水洗，洗液待樹脂上部之水將流盡時，再注入層析管內，反覆操作至流出液全量為10 ml供作檢液。

2.2.2.6. 鑑別試驗及含量測定：

將檢液2 μ l 注入氣相層析儀，由所得波峰之滯留時間與丙酸標準溶液比較鑑別之。由檢液中丙酸與丁烯-2-酸內部標準之面積比，依另取之丙酸標準溶液在丁烯-2-酸存在下所得之丙酸與丁烯-2-酸面積比對丙酸濃度之檢量線，求出檢體中丙酸之含量。

氣相層析法之條件：

層析管溫度：160～200 $^{\circ}$ C

注入器溫度：200～240 $^{\circ}$ C

檢出器溫度：200～250 $^{\circ}$ C

移動相氣體及流速：N₂，40 ml/min

2.2.3. 第三法：適用於食品中聯苯之鑑別試驗及含量測定。

2.2.3.1. 裝置：

2.2.3.1.1. 氣相層析儀：

2.2.3.1.1.1. 檢出器：氫焰離子檢出器。

2.2.3.1.1.2. 層析管：內徑3～4 mm，長2 m之不銹鋼管或玻璃管。

2.2.3.1.1.3. 層析管用填充劑：

(1) Chromosorb W (60～80 mesh) 上覆被有 PEG 600 (Polyethylene glycol 600) 10%。

(2) Gaschrom Q (60～80 mesh) 上覆被有 PEG 20M 5%。

(3) Chromosorb W (60～80 mesh) 上覆被有 DEGS (Diethylene glycol succinate) 5% 及磷酸 1%。

2.2.3.1.2. 蒸餾裝置：包括精油定量器(A)、冷卻管(B)(如附圖)及1 l 共栓圓底蒸餾瓶。

2.2.3.1.3. 攪拌均質器：具500 ml 容量均質杯。

2.2.3.2. 試藥：

環己烷 (Cyclohexane)、硫酸鈉、磷酸、無水硫酸鈉均採用試藥特級。

2.2.3.3. 器具及材料：

2.2.3.3.1. 電熱套 (Heating mantle)

2.2.3.3.2. 分液漏斗：

2.2.3.4. 標準溶液之調製：

精確稱取聯苯 (Biphenyl) (標準品或試藥級) 20 mg 溶於環己烷使成 100 ml 。

2.2.3.5. 檢液之調製：

取適量代表性檢體，細切混合後，正確稱取 50 g，放入攪拌均質器內加水 200 ml，均質攪拌後移入 1 l 共栓圓底蒸餾瓶中，攪拌均質器用少量水洗滌後，洗液併入蒸餾瓶中，蒸餾瓶內加入硫酸鈉 60 g，

磷酸 1 ml，矽樹脂約 0.5 ml 及沸騰石後，裝上精油定量器，加水至裝置之基準線，線上再加 3 ml 之環己烷後，裝上冷卻管，進行蒸餾，由沸騰開始蒸餾 90 分鐘後，放置使精油定量器冷卻，啓開活塞，除去下層之水，環己烷層移入分液漏斗中，精油定量器用少量之環己烷洗滌，洗液併入分液漏斗中，加少量無水硫酸鈉脫水，過濾於 10ml 之容量瓶中，加環己烷使全量為 10ml，供作檢液。

2.2.3.6. 鑑別試驗及含量測定：

檢液及標準溶液各取 5 μ l，分別注入氣相層析儀，依下列條件作氣相層析，就檢液所得波峰之滯留時間，與標準溶液比較鑑別之。並依另取之聯苯標準溶液按上述方法作成檢量線，求出檢體中聯苯之含量。

氣相層析法之條件

層析管填充劑	層析管溫度 ($^{\circ}$ C)	檢出器及注入器溫度 ($^{\circ}$ C)	移動相氣體 N ₂ 流量 (ml/min)
(1)	175	210	30
(2)	165	200	60
(3)	120	200	25

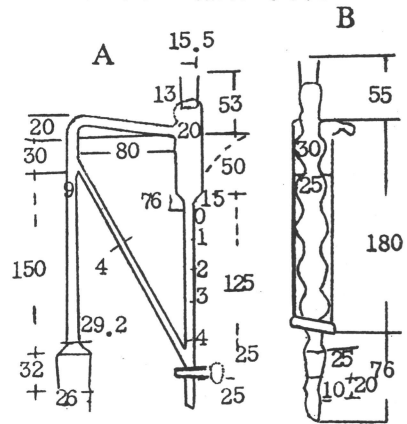
2.3. 薑黃試紙檢驗法 (Curcumin Test Paper Method)：適用於食品中硼酸及其鹽類之鑑別試驗 (註二)。

2.3.1. 裝置：灰化爐。

2.3.2. 試藥：

薑黃素 (Curcumin)、乙醇均採用試藥特級，氧化鈣、氫氧化鈉、氫氧化銨 (氨水)、鹽酸均採用試藥級。

附圖：蒸餾裝置



數字以mm表示

防腐劑檢驗方法

2.3.3. 器具及材料：

濾紙、研鉢。

2.3.4. 石灰乳之調製

取氧化鈣 10 g，置於研鉢中，以水 40 ml 徐徐加入研磨均勻而成。

2.3.5. 薑黃試紙之調製：

取薑黃素 0.1 g，溶於 400 ml 之乙醇中，將濾紙浸入，俟濾紙充分浸透後取出置於暗處風乾，貯存於褐色瓶中備用。

2.3.6. 檢液之調製：

將檢體細切研碎後稱取 3 ~ 4 g，置入坩堝中，加入石灰乳至呈鹼性，攪拌混合後蒸發乾涸，移入灰化爐中，約 500 °C 強熱灰化之，俟完全灰化後取出冷卻，所得灰分加入 2 ~ 3 ml 之 10 % 鹽酸溶液，使其溶解，加水至 10 ml，供作檢液，檢液應呈強酸性，pH 值為 0.3 ~ 0.4，以甲酚紅 (Cresol red) 試紙測定。

2.4.8. 鑑別試驗：

將薑黃試紙浸入檢液中，隨即取出，並在 60 ~ 70 °C 烘乾，若試紙呈紅色至橙紅色，續在呈色部分滴加 5 % 碳酸鈉溶液或 10 % 氨水後，若試紙變為青藍至藍黑色時，即含有硼酸或其鹽類。

(註一)：2.2.2.2. 節試藥中，強酸性離子交換樹脂可採用 Dowex 5X8 Amberlite C G 120 等。

(註二)：依本檢驗法所得結果應注意海藻類、海蜇皮、茶葉等含有天然硼化合物。

3. 參考文獻：日本衛生試驗法註解 (1980)。