

食品中未知添加物之分析

蔡佳芬 蔡沁琰 曾素香 闕麗卿 施養志

食品藥物管理局研究檢驗組

摘要

本研究自99年即著手以紅外光譜(IR)及拉曼光譜(Raman spectrum)等分析技術進行食品添加物分析，建立紅外光與拉曼光譜圖庫，並於100年加入X光繞射(XRD)分析技術，強化未知物分析之技術及能力。於100年起將本研究之各項分析技術應用於社會關注案件之檢驗，分別應用紅外光譜及拉曼光譜分析於起雲劑原料篩檢發現未知塑化劑，拉曼光譜分析於毒米酒中發現2-氯乙醇，X光繞射分析於鎂含量偏高之益生菌產品，鑑別出添加氧化鎂成分等，未來將可應用本研究之技術進行未知物之分析。

關鍵詞：塑化劑、鄰苯二甲酸酯類、紅外光譜、拉曼光譜、X光繞射

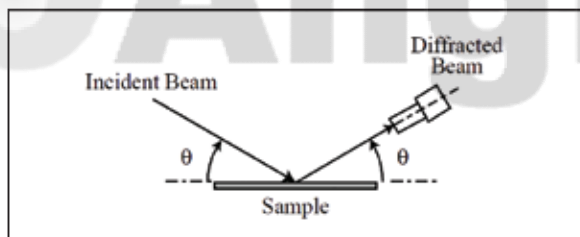
前言

紅外線(infrared, IR)光譜與拉曼(Raman)光譜同屬分子光譜範疇，可反映物質分子的振動和轉動特徵，但兩者都有自身的特點。對紅外線光譜而言，分子在振動過程中偶極矩發生變化才屬於紅外活性。而對於拉曼光譜而言，只有極化率 α 發生變化時，才能產生拉曼散射。一般來說，分子的非對稱性振動和極性基團的振動使分子的偶極矩發生變化，因而它是紅外活性的；而分子的全對稱振動和非極性基團的振動使分子的偶化率發生變化，因而它是拉曼活性的。紅外光譜最適用研究於不同原子的極性鍵的振動，而拉曼光譜最適用於研究同原子的非極性鍵^(1,2)。

對大多數有機化合物分子來說，具有不完全的對稱性，因而它們在紅外光譜和拉曼光譜中均有反應。在紅外光譜中，可出現分子非對稱振動和極性基團振動所產生的吸收譜帶，如強極性基團-C=O，-OH和-C-X (X代表鹵素)等在紅外光譜中有強吸收帶，但在拉曼光譜中卻沒有反映。而對於非極性但易於極化的鍵(或基團)，如-C=C-

C=C-，-N=N-，-S-S-等，卻都具拉曼活性，都出現明顯的吸收譜帶。由此可見，紅外光譜和拉曼光譜對於研究分子結構而言是互補的，這兩者間的相互結合可以得到分子結構的完整資料⁽²⁾。

使用紅外光譜和拉曼光譜至少有兩個優點⁽³⁾：(一)非破壞性之檢驗：由於不造成分子結構之改變，在測試後仍可串聯至其他偵測器再作一次檢測。因此對同一樣品可進行其他測試，在分析品質上有更佳之可靠度。例如將GC之FT-IR與火燄離子偵測器(flame ionization detector, FID)串聯，在讀取FID層析圖之個別波峰時，同時可由FT-IR之化合物辨識能力，進行同步鑑別。此外FT-IR對同分異構物，例如，鄰、間、對位苯環或其它多環芳香取代物亦有比其它儀器更好之辨識力，可補足氣相層析質譜儀(GC/MSD)之不足。(二)高選擇性(high selectivity)：以視窗層析(window chromatography)之數據處理，可鎖定某特定波長區間，而有效區分滯留時間相似但特性吸收有明顯差異的化合物，同時以選擇高吸收區為視窗波長來計算訊號檢測值，儀器之偵測靈敏度及雜訊比都將大幅改善。



圖一、X光粉末繞射裝置示意圖

此外，自1912年德國慕尼黑大學物理學者勞厄(Max Von Laue)發現X光通過晶體的繞射現象，開啟了X光繞射在材料量測上的應用。X光繞射為一非破壞性之量測技術，其波長範圍為 10^2 - 10^2 nm，接近於原子尺度，可用來鑑定未知材料之晶體結構。其應用範圍可延伸至晶粒大小之決定、晶格大小之量測、晶格排項判定等⁽⁴⁾。一般常用的X光繞射裝置有粉末繞射儀和薄膜繞射儀兩種。粉末繞射常用於多晶材料的晶格鑑定，依據繞射圖譜的強度及波峰位置來判定材料的組成以及結晶性。粉末繞射儀之裝置如圖一所示，這種配置方式的繞射裝置稱為Bragg-Bretano，其特點為入射光、反射光以及試樣的平面法向量在同一個平面上，入射光與偵測器偵測以相同角度執行入射與偵測。此種偵測方式僅對晶面平行於試片表面的粉末結晶顆粒做布拉格繞射，將所蒐集之圖譜，和資料庫圖譜做比對即可將樣品之成分以及結晶相比對出來⁽⁵⁾。

本研究以紅外光、拉曼光譜儀及粉末X光繞射儀進行未知物鑑別技術之探討，以強化未知物之鑑別能力。

材料及方法

一、樣品來源

於100年間，受理衛生局送驗之起雲劑原料、米酒證物、益生菌檢體等3個案件。

二、材料

鄰苯二甲酸二辛酯(di-n-octyl phthalate, DNOP)、鄰苯二甲酸二異癸酯(diisodecyl

phthalate, DIDP)購自美國Fluka公司；鄰苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、鄰苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)、鄰苯二甲酸丁基苯基酯(butyl benzyl phthalate, BBP)、鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(bis(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP)購自德國Riedel-de Haen公司；鄰苯二甲酸二異壬酯(diisononyl phthalate, DINP)購自日本WAKO公司。

三、儀器

- (一)顯微紅外線光譜分析儀(IdentifyIR™, 美國Smiths Detection公司)。
- (二)顯微拉曼光譜分析儀(Ramam Rxn systems, 美國Kaiser Optical Systems公司)。
- (三)粉末X光繞射儀(powder X-ray diffraction, XRD)(Minidiffractometer MD-10, 美國MTI公司)：使用的光源為銅靶，其X光係將高熱燈絲通以高電流後所釋放出的熱電子，再利用高電壓加速此熱電子，電子經過電壓加速後撞擊銅靶，其損失的能量以X光的形式釋放。而銅的特徵X光譜波長分別為 $K\alpha 1 = 1.54051 \text{ \AA}$ 及 $K\alpha 2 = 1.54433 \text{ \AA}$ 。因此所生成的X光平均波長為 1.5418 \AA 。

(四)資料庫

1. RSIQ軟體：拉曼圖譜資料庫及比對軟體，美國Agiltron公司。
2. ICSD資料庫(Inorganic Crystal Structure Database)：由FIZ Karlsruhe (Leibniz Institute for Information Infrastructure)及National Institute of Standards and Technology (NIST)共同合作建立，可自CrystalWeb及ICSD-WWW介面查詢。

四、分析步驟

直接將粉末或液狀檢體置於顯微紅外線光譜分析儀及顯微拉曼光譜分析儀之探頭，以紅外線及雷射光照射，分別測得其紅外線光譜圖及拉曼光譜圖。

直接將粉末檢體置於盛樣杯中，壓平後置於

X光繞射儀之載物臺上，以X光照射分析之，測得X光繞射圖。

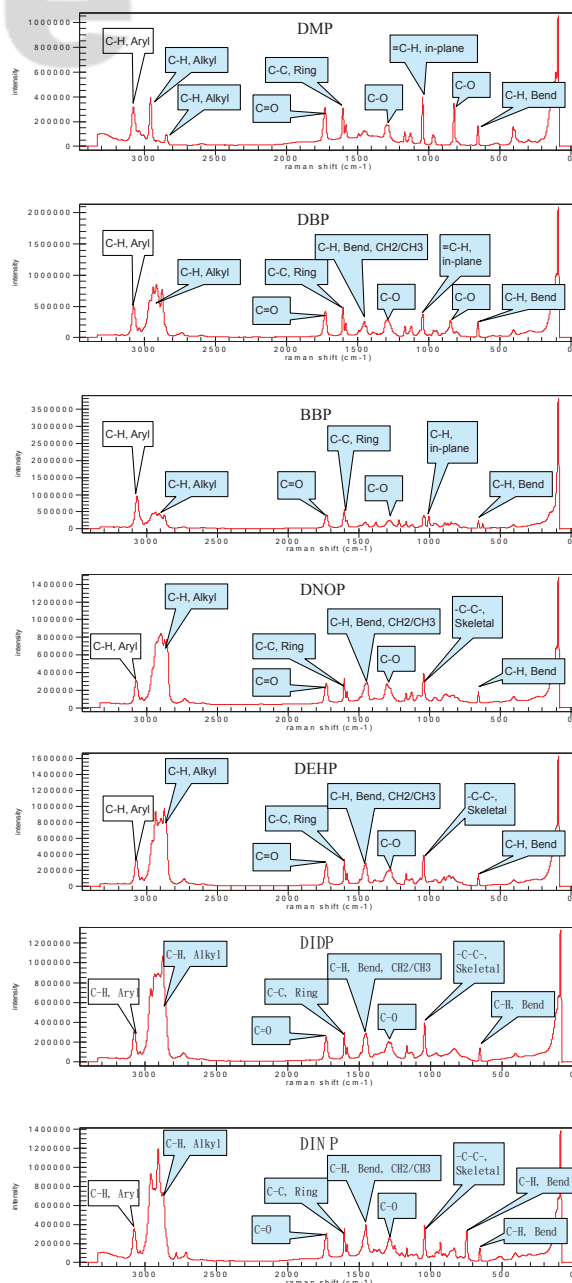
結果與討論

本研究自99年即著手以紅外光譜(IR)及拉曼光譜(Raman spectrum)等分析技術進行食品添加物分析，建立紅外光與拉曼光譜圖庫，目前業已建立23種防腐劑、12種人工甘味劑、葡萄糖胺、碳酸氫銨、三聚氰胺、三聚氰酸及塑化劑如鄰苯二甲酸二甲酯、鄰苯二甲酸二丁酯等相關污染物及食品添加物之IR及Raman光譜圖庫，逐步建置化學物質資料庫。並於100年加入X光繞射(XRD)分析技術，強化未知物分析之技術及能力。應用本研究之各項分析技術於社會關注案件之檢驗，分述如下：

一、起雲劑原料篩檢發現未知物—紅外光及拉曼光譜分析技術之應用

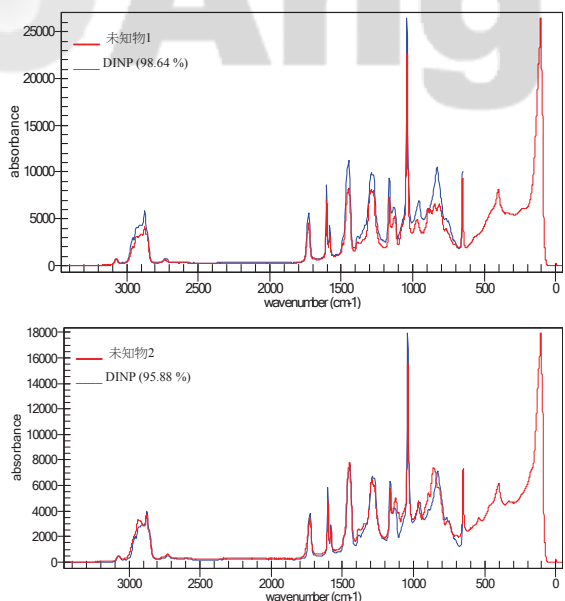
100年度因塑化劑事件，實驗室湧入大量未知添加物，為避免高濃度污染物直接污染高精密儀器，本研究嘗試以顯微紅外線光譜及拉曼光譜儀進行原料樣品之初篩。但因考量各類塑化劑之質地為黏稠液體，本研究所使用之顯微紅外線光譜分析儀需與樣品接觸，為顧及儀器的清理保養及減少鏡頭損耗，不適合以顯微紅外線光譜分析儀進行分析，因此選用拉曼光譜儀建立塑化劑光譜圖之資料庫，共完成鄰苯二甲酸二甲酯等7種鄰苯二甲酸酯類塑化劑之拉曼光譜圖(圖二)。

應用於不明樣品分析時，我們成功發現2件濃稠樣品係高濃度塑化劑成分，雖於當時因塑化劑標準品仍未蒐集完備，無法直接由標準品圖譜比對得知係何種塑化劑，但已能明確知道，其係非DEHP的其他種類塑化劑。並於進一步以氣相層析質譜儀分析時得知，該樣品係為DINP塑化劑。因此，拉曼分析圖譜因具指紋特性，在無法取得對照用標準品的情況下，其提供之分析資訊仍極具參考價值。在其後，將不明樣品之拉曼光譜圖與標準品圖譜比對，證實該2樣品與DINP之相符程度達98.64及95.88%(圖三)。

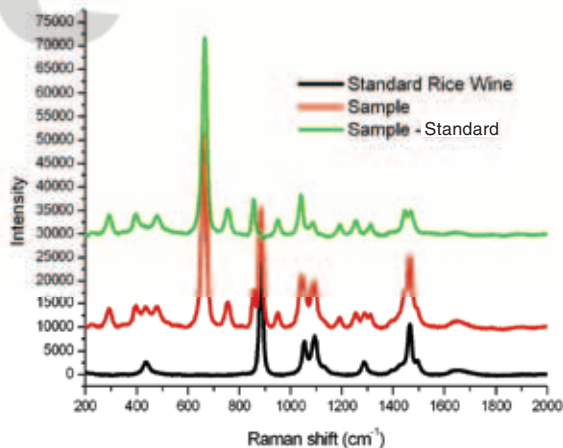


圖二、七種鄰苯二甲酸酯類塑化劑之拉曼光譜圖
 DMP：鄰苯二甲酸二甲酯；DBP：鄰苯二甲酸二丁酯；BBP：鄰苯二甲酸丁基苯基酯；
 DNOP：鄰苯二甲酸二辛酯；DEHP：鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯；DIDP：鄰苯二甲酸二異癸酯；DINP：鄰苯二甲酸二異壬酯

食品中未知添加物之分析



圖三、不明樣品與DNP之拉曼光譜圖
未知物1與DNP之相符程度為98.64%；
未知物2與DNP之相符程度為95.88%

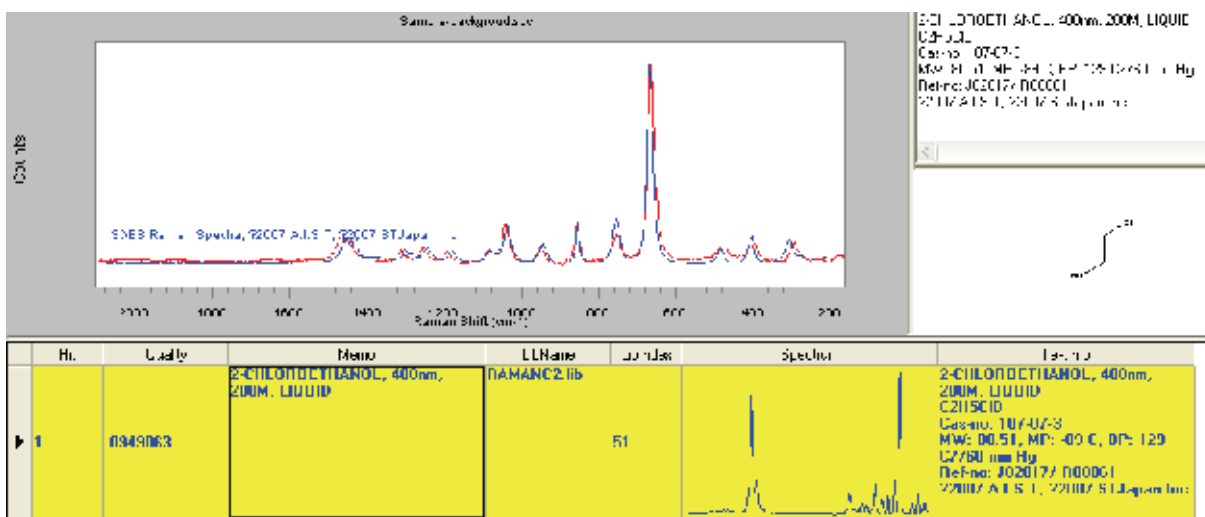


圖四、以拉曼顯微光譜儀分析毒米酒之未知成分

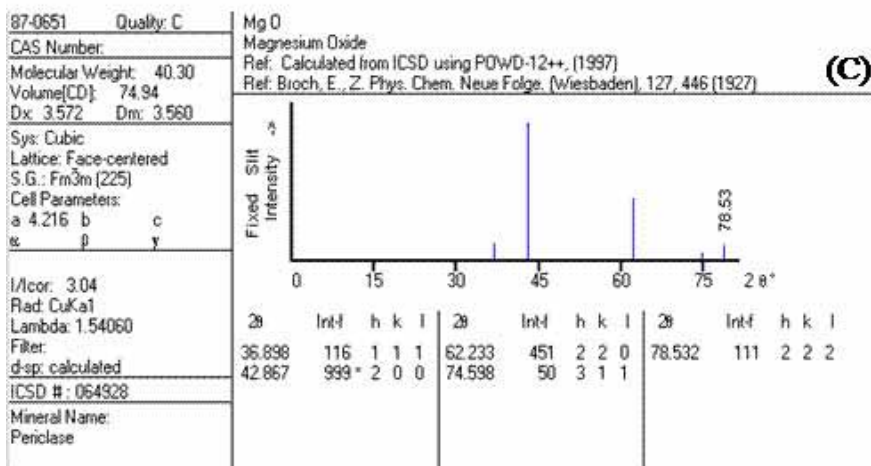
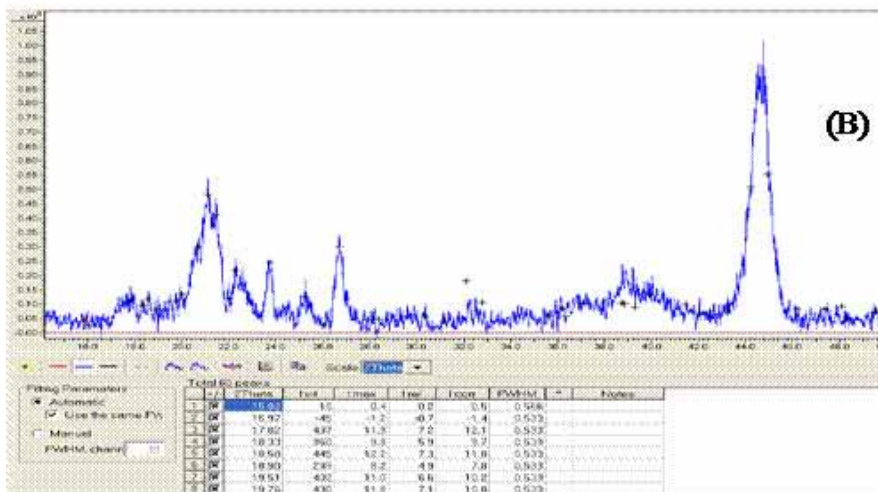
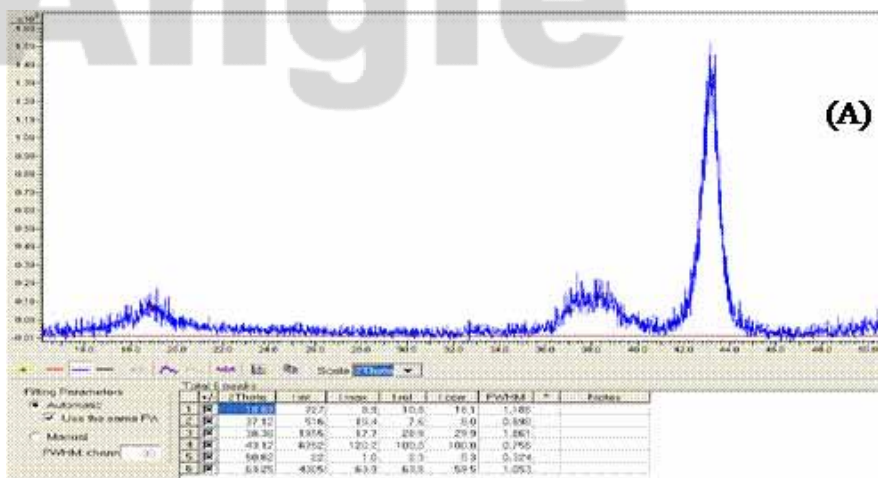
二、毒米酒鑑定案－拉曼光譜分析技術之應用

100年7月間發生一起疑似米酒下毒案，本研究接獲米酒檢體後，考量米酒中的主要成分為水

及酒精，不適合以紅外線光譜儀進行分析，因此先以拉曼光譜法進行探討。對於未知物之分析，因既非特定標的物，且非純物質之分析，無法直接以標準品圖譜來加以比對。本研究取市售米酒(料理米酒)為對照用標準品與代測物2 mL分別置於樣品瓶，以拉曼顯微光譜儀進行分析，獲取其拉曼光譜圖，使用圖譜處理功能去除背景與米酒訊號(圖四)，而後與Agiltron公司之拉曼圖譜資料庫比對獲得結果，該檢體中含有2-氯乙醇(2-chloroethanol, C₂H₅ClO)成分(圖五)，並於後續



圖五、以拉曼顯微光譜儀鑑別毒米酒之未知成分



圖六、以X光繞射儀鑑別粉末之氧化鎂成分
(A)氧化鎂標準品；(B)樣品；(C) ICSD資料庫

之氣相層析質譜分析(GC-MS)中獲得印證。2-氯乙醇係葡萄催芽劑成份，具神經毒性，臨床上超過5 mL就會致命。

三、益生菌產品氧化鎂成分之鑑別—X光繞射光譜分析技術之應用

市售某標榜含有益生菌及果寡糖之食品，訴求可「天天好輕便，輕盈看得見」，涉有誇大促進排便功效之嫌。樣品經微波消化後以感應耦合電漿放射光譜儀(ICP-OES)檢測，結果產品中所含鎂含量高達12.5%，估算為250 mg/包(2 g)。依據食品添加物使用範圍及限量暨規格標準規定，氧化鎂可使用於一般食品中以補充不足之營養素。在每日食用量中，其鎂之總含量不得高於600 mg；未標示每日食用量者，每300 g食品中鎂之總含量不得高於600 mg。以該檢體鎂含量約為250 mg/包(2 g)計算，其包裝上之最大食用量為每次2包，每日2次，推算其每日最大食用量已達1000 mg，超過食品添加物使用範圍及限量暨規格標準之規定。

因此本研究以X光繞射儀(XRD)對其粉末檢體中的鎂成分及氧化鎂標準品進行結構之鑑別。並將繞射圖譜與ICSD資料庫(the inorganic crystal structure database)比對，確認粉末樣品所含鎂成分為氧化鎂(圖六)。

結 論

以紅外光譜、拉曼光譜及X光繞射技術對於未知食品添加物之鑑別確有助益，本研究已成功將拉曼光譜技術應用於塑化劑、毒米酒中含2-氯乙醇等案件之未知物鑑別，並依據粉末X光繞射儀繞射圖譜的強度及波峰位置來判定材料的組成

以及結晶性，鑑別出樣品中所含鎂成分之組成，檢測方法不需進行樣品前處理，既快速且環保。

食品添加物的檢驗因貼近民生，向為民眾關注的焦點，在國際物流及資訊快速傳遞的現況下，食品添加物檢驗的議題通常不再侷限於傳統的防腐劑、人工甘味劑、著色劑等分析品項。而新形式的食品添加物不斷問世，國際間除了面臨食品添加物審核時間的壓力外，在新式食品添加物檢驗方法的開發上更是一大挑戰，尤其是面對非法添加的情形(如三聚氰胺、塑化劑DEHP等)，猶如無定位技術而在大海航行一般，毫無頭緒。食品成分複雜，傳統以液相層析、氣相層析、薄層層析等技術所執行的檢驗工作，常面臨不知內含何種物質的困擾，因此勢必要導入不同的檢驗技術，來強化食品添加物的檢驗效能，尤其是在未知物分析領域的努力空間更大。未來本研究將持續進行各類添加物質之光譜圖庫建立，並將技術應用於各類未知物質檢驗之挑戰。

參考文獻

1. 賀孝雍譯。1989。有機化合物之光譜鑑別法。眾光文化事業有限公司，台北市。
2. 柯以侃。2007。儀器分析。新文京開發出版股份有限公司，新北市。
3. 王世冠。1998。傅氏紅外光譜在環境分析上之應用。行政院環保署環境檢驗通訊雜誌第十九期。
4. 鄧建龍、姚潔宜、張茂男。2008。X光繞射半導體工業上的應用。奈米通訊，15(4): 6-9。
5. 鄭信民、林麗娟。2002。X光繞射應用簡介。工業材料雜誌，181: 100-108。

The Analysis of Nontarget Additives in Foods

CHIA-FEN TSAI, CHING-HSUAN TSAI, SU-HSIANG TSENG,
LIH-CHING CHIUEH AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

This research was aimed to analyze food additives by infrared spectrum (IR) and Raman spectrum since 2010. We also set up the technique of X-ray diffraction (XRD) in 2011 to improve the capability for the analysis on nontargeted compounds. This nontarget analysis technique was employed to some case studies in 2011, such as finding unknown phthalate in cloudy agent by IR and Ramon spectra, finding 2-chloroethanol in rice wine by Ramon spectrum, characterizing the structure of magnesium oxide in probiotics dietary supplement by X-ray diffraction analyze, etc. We shall be able to apply these techniques to carry on the analysis of the unknown compounds in the future.

Key words: plasticizer, phthalates, infrared spectrum, Raman spectrum, X-ray diffraction