

公開日期：102 年 4 月 26 日

修正日期：102 年 5 月 13 日

食品中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐總量之檢驗方法

Method of Test for Total Amounts of Maleic Acid and Maleic Anhydride in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於順丁烯二酸酐澱粉及其製品中順丁烯二酸 (maleic acid) 與順丁烯二酸酐 (maleic anhydride) 總量之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取、皂化後，以高效液相層析儀 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器 (photodiode array detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 振盪器 (Shaker)。
 - 2.1.3. 酸鹼度測定儀 (pH meter)。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；磷酸(85%)、鹽酸及氫氧化鉀均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 M Ω ·cm 以上)；順丁烯二酸對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：50 mL 及 100 mL。
 - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，PVDF 材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 50% 甲醇溶液：

取甲醇 250 mL，加去離子水使成 500 mL。
 - 2.4.2. 5N 鹽酸溶液：

取去離子水 50 mL，徐徐加入鹽酸 42 mL，混勻冷卻後，再加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.3. 0.5N 氫氧化鉀溶液：

稱取氫氧化鉀 14 g，以去離子水溶解使成 500 mL。

2.4.4. 0.1%磷酸溶液：

取磷酸 1.2 mL，加去離子水使成 1000 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

取 0.1%磷酸溶液與甲醇以 98：2 (v/v)之比例混勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取順丁烯二酸對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時精確量取適量標準原液，以去離子水稀釋至 0.02～1.0 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體均質或混勻後，取約 1 g，精確稱定，置於離心管中，加 50%甲醇溶液 25 mL，振盪 30 分鐘後，加 0.5N 氫氧化鉀溶液 20 mL，混勻，靜置 2 小時。加 5N 鹽酸溶液約 3 mL，使呈酸性，以去離子水定容至 50 mL。靜置後，取上清液 100 µL (a)，加去離子水使成 1000 µL (b)，混勻後，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量(ppm)^(註)：

$$\text{檢體中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量(ppm)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C：由標準曲線求得順丁烯二酸之濃度(µg/mL)

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

註：順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量，以順丁烯二酸計。

高效液相層析測定條件^(註)：

光二極體陣列檢出器：波長 214 nm。

層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 µm，內徑 4.6 mm × 25 cm。

移動相溶液：依 2.5.節調製之溶液。

移動相流速：1 mL/min。

註：1. 所採用之層析管應有效將順丁烯二酸與反丁烯二酸 (fumaric acid)、醋酸、蘋果酸(malic acid)及琥珀酸 (succinic acid)等分離。

2. 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。

附註：1. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

2. 以液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)進行確認時，移動相溶液改採 0.1%甲酸溶液：甲醇(98:2, v/v)，LC/MS/MS 之多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式參考參數如下表：

分析物	離子化 模式	離子對		去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
		前驅離子(m/z)	產物離子(m/z)		
順丁烯二酸	ESI ⁻	115	71*	-15	-11
		115	32	-15	-28

*定量離子對