

食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法

Method of Test for Phthalate Plasticizers in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用食品中鄰苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)等 9 品項鄰苯二甲酸酯類(見附表)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化處理後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化正離子(positive ion electrospray ionization, ESI⁺)。
 - 2.1.1.2. 捕捉管柱(Trap column)：
 - 2.1.1.2.1. Agilent ZORBAX SB-C18，3.5 μm，內徑 2.1 mm × 3 cm，或同級品(HPLC 系統)。
 - 2.1.1.2.2. ACQUITY UPLC BEH C18，1.7 μm，內徑 2.1 mm × 3 cm，或同級品(UPLC 系統)。
 - 2.1.1.3. 層析管：
 - 2.1.1.3.1. Waters XBridge C18，3.5 μm，內徑 2.1 mm × 10 cm，或同級品(HPLC 系統)。
 - 2.1.1.3.2. ACQUITY CSHTM Phenyl Hexyl，1.7 μm，內徑 2.1 mm × 10 cm，或同級品(UPLC 系統)。
 - 2.1.2. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.3. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：可達 3000 rpm 者。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用殘量級；丙酮、乙腈及正戊烷採用液相層析級；試劑水採用液相層析質譜級；醋酸銨採用試藥特級；乙醇採用分析級；鄰苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、鄰苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)、鄰苯二甲酸二異丁酯(diisobutyl phthalate, DIBP)、鄰苯二甲酸丁基苯酯(benzyl

butyl phthalate, BBP)、鄰苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)、鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)、鄰苯二甲酸二辛酯(di-*n*-octyl phthalate, DNOP)、鄰苯二甲酸二異壬酯(diisononyl phthalate, DINP)、鄰苯二甲酸二異癸酯(diisodecyl phthalate, DIDP)對照用標準品；DMP-d₄ (1000 μg/mL in methanol)、DEP-d₄ (1000 μg/mL in methanol)、DBP-d₄、BBP-d₄ (100 μg/mL in nonane)、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 同位素內部標準品。

2.3. 器具及材料^(註)：

2.3.1. 容量瓶：10 mL、25 mL、50 mL 及 100 mL，玻璃材質。

2.3.2. 離心管：15 mL，玻璃材質。

2.3.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。

註：檢驗中所使用之器具及材料均需為玻璃材質，不可使用塑膠材質，使用前需先以丙酮及甲醇潤洗，吹乾備用。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 正戊烷：丙酮(1:1, v/v)溶液：

取正戊烷與丙酮以 1：1 (v/v)之比例混勻。

2.4.2. 正戊烷：甲醇(1:4, v/v)溶液：

取正戊烷與甲醇以 1：4 (v/v)之比例混勻。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. HPLC 系統

2.5.1.1. 移動相溶液 A：

稱取醋酸銨 0.39 g，以試劑水溶解使成 1000 mL，供作移動相溶液 A。

2.5.1.2. 移動相溶液 B：甲醇。

2.5.2. UPLC 系統

2.5.2.1. 移動相溶液 C：

取甲酸 1 mL，加試劑水使成 1000 mL，供作移動相溶液 C。

2.5.2.2. 移動相溶液 D：

取甲酸 1 mL，加乙腈使成 1000 mL，供作移動相溶液 D。

2.6. 內部標準溶液：

2.6.1. 50 µg/mL 之 DMP-d₄ 及 DEP-d₄ 混合內部標準原液：

精確量取 DMP-d₄ 及 DEP-d₄ 同位素內部標準品各 0.5 mL，共置於 10 mL 容量瓶中，以甲醇定容。

2.6.2. 10 µg/mL 之 BBP-d₄ 內部標準原液：

精確量取 BBP-d₄ 同位素內部標準品 1 mL，經氮氣吹乾，以甲醇 10 mL 溶解。

2.6.3. 100 µg/mL 之 DBP-d₄、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 混合內部標準原液：

取 DBP-d₄、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 同位素內部標準品各約 1 mg，精確稱定，共置於 10 mL 容量瓶中，以甲醇溶解並定容。

2.6.4. 3 µg/mL 之 DMP-d₄、DEP-d₄ 及 0.5 µg/mL 之 BBP-d₄、DBP-d₄、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 內部標準溶液：

精確量取 50 µg/mL 之 DMP-d₄ 及 DEP-d₄ 混合內部標準原液 0.6 mL、10 µg/mL 之 BBP-d₄ 內部標準原液 0.5 mL 及 100 µg/mL 之 DBP-d₄、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 混合內部標準原液各 0.05 mL，共置於 10 mL 容量瓶中，以甲醇定容，供作內部標準溶液。

2.7. 標準溶液之配製：

取 DMP、DEP、DIBP、DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP 及 DIDP 對照用標準品各約 100 mg，精確稱定，共置於 100 mL 容量瓶中，以甲醇溶解並定容，作為標準原液，臨用時添加適量內部標準溶液，以甲醇稀釋至 0.005~0.2 µg/mL (內含 0.03 µg/mL 之 DMP-d₄、DEP-d₄ 及 0.005 µg/mL 之 BBP-d₄、DBP-d₄、DEHP-d₄ 及 DNOP-d₄ 內部標準品)，供作標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

2.8.1. 飲料類、嬰幼兒食品及膠囊錠狀食品

取均質混勻檢體約 1 g，精確稱定，置於 10 mL 容量瓶中，分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及甲醇約 8 mL，以超音波振盪 30 分鐘，冷卻後，以甲醇定容。靜置後，取上部溶液約 2 mL，置於離心管中，以 3000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液供作檢液。另取

10 mL 容量瓶，分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及甲醇約 8 mL，同樣操作，供作流程空白檢液(procedure blank)。

2.8.2. 乳汁

取混勻檢體約 1 g，精確稱定，置於 15 mL 離心管中，分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及乙醇 1 mL，旋渦混合 1 分鐘，續加入正戊烷：丙酮(1:1, v/v)溶液 2 mL，旋渦混合 1 分鐘，於 1500 rpm 離心 1 分鐘，取上清液，殘留物再加入正戊烷 3 mL，旋渦混合 1 分鐘，於 1500 rpm 離心 1 分鐘，取上清液，重複此步驟 1 次，合併上清液，以正戊烷定容至 10 mL，精確量取 1 mL，經氮氣吹乾後，以乙腈 1 mL 溶解，供作檢液。另取 15 mL 離心管，分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及乙醇 1 mL，同樣操作，供作流程空白檢液。

2.8.3. 奶粉類

取混勻檢體約 1 g，精確稱定，置於 15 mL 離心管中，加入試劑水 1 mL 使其溶解，再分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及乙醇 1 mL，旋渦混合 1 分鐘，續加入正戊烷：丙酮(1:1, v/v)溶液 2 mL，旋渦混合 1 分鐘，於 1500 rpm 離心 1 分鐘，取上清液，殘留物再加入正戊烷 3 mL，旋渦混合 1 分鐘，於 1500 rpm 離心 1 分鐘，取上清液，重複此步驟 1 次，合併上清液，以正戊烷定容至 10 mL，精確量取 1 mL，經氮氣吹乾後，以乙腈 1 mL 溶解，供作檢液。另取 15 mL 離心管，加入試劑水 1 mL，再分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及乙醇 1 mL，同樣操作，供作流程空白檢液。

2.8.4. 油脂類

固態檢體先以水浴加熱至熔化，取混勻檢體約 0.5 g，精確稱定，置於 15 mL 離心管中，加入正戊烷 0.5 mL 使其溶解，再分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及正戊烷：甲醇(1:4, v/v)溶液 3 mL，旋渦混合 1 分鐘，於 1000 rpm 離心 1 分鐘，取上清液，重複此步驟 1 次，合併上清液，以甲醇定容至 10 mL，供作檢液。另取 15 mL 離心管，加入正戊烷 0.5 mL，再分別加入內部標準溶液 0.1 mL 及正戊烷：甲醇(1:4, v/v)溶液 3 mL，同樣操作，供作流

程空白檢液。

2.9. 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液各 10 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就各鄰苯二甲酸酯與內部標準品波峰面積比，與對應之各鄰苯二甲酸酯濃度，分別製作標準曲線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

1. HPLC 系統：

層析管：Waters XBridge C18，3.5 μ m，內徑 2.1 mm $\times$ 10 cm。

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析

Time (min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 2.0	75 $\rightarrow$ 50	25 $\rightarrow$ 50
2.0 $\rightarrow$ 4.2	50 $\rightarrow$ 50	50 $\rightarrow$ 50
4.2 $\rightarrow$ 4.3	50 $\rightarrow$ 20	50 $\rightarrow$ 80
4.3 $\rightarrow$ 9.5	20 $\rightarrow$ 20	80 $\rightarrow$ 80
9.5 $\rightarrow$ 9.6	20 $\rightarrow$ 0	80 $\rightarrow$ 100
9.6 $\rightarrow$ 17.0	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100
17.0 $\rightarrow$ 17.1	0 $\rightarrow$ 75	100 $\rightarrow$ 25
17.1 $\rightarrow$ 22.0	75 $\rightarrow$ 75	25 $\rightarrow$ 25

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：10 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：4 kV。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：350°C。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：10 L/min。

噴霧器壓力(Nebulizer)：40 psi。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。

偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如附表。

2. UPLC 系統：

層析管：ACQUITY CSHTM Phenyl Hexyl，1.7 μ m，內徑 2.1 mm $\times$ 10 cm。

移動相溶液：C 液與 D 液以下列條件進行梯度分析

Time (min)	C (%)	D (%)
0 → 2.0	75 → 50	25 → 50
2.0 → 7.2	50 → 50	50 → 50
7.2 → 7.3	50 → 20	50 → 80
7.3 → 9.5	20 → 20	80 → 80
9.5 → 9.6	20 → 0	80 → 100
9.6 → 12.5	0 → 0	100 → 100
12.5 → 12.6	0 → 75	100 → 25
12.6 → 15.0	75 → 75	25 → 25

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：10 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.2 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：120°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：500°C

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：100 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow rate)：800 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測。偵測離子對、進樣錐電壓與碰撞能量如附表。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.10.鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液、流程空白檢液及標準溶液各 10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依 2.9.節液相層析串聯質譜條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度比^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各鄰苯二甲酸酯之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各鄰苯二甲酸酯之含量(ppm)} = \frac{(C - C_0) \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各鄰苯二甲酸酯之濃度(µg/mL)

C₀：由標準曲線求得流程空白檢液中各鄰苯二甲酸酯之濃度

($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得
 ($\leq 100\%$)，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

附註：

1. 本檢驗方法之定量極限如下表：

分析物	定量極限(ppm)				
	飲料類	嬰幼兒 食品	膠囊錠狀 食品	乳汁及奶 粉類	油脂類
DMP	0.05	0.05	0.05	0.05	0.1
DEP					
BBP					
DBP					
DNOP					
DIDP					
DIBP				0.1	0.2
DEHP					
DINP					

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

附表、鄰苯二甲酸二甲酯等 9 品項鄰苯二甲酸酯類之多重反應偵測模式參數

分析物	離子對	進樣錐 電壓(V)	碰撞能量 (eV)	內部 標準品
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)			
DMP	195 > 163 [*]	14	12	DMP-d ₄
	195 > 133	14	24	
DEP	223 > 149 [*]	10	16	DEP-d ₄
	223 > 177	10	9	
DIBP	279 > 149 [*]	13	6	DBP-d ₄
	279 > 205	13	7	
BBP	313 > 149 [*]	19	12	BBP-d ₄
	313 > 205	19	8	
	313 > 239	19	6	
DBP	279 > 149 [*]	16	15	DBP-d ₄
	279 > 205	16	8	
DEHP	391 > 149 [*]	19	23	DEHP-d ₄
	391 > 279	19	13	
	391 > 167	19	9	
DNOP	391 > 149 [*]	21	16	DNOP-d ₄
	391 > 261	21	9	
	391 > 121	21	47	
DINP	419 > 149 [*]	19	30	DNOP-d ₄
	419 > 275	19	9	
	419 > 293	19	12	
DIDP	447 > 149 [*]	17	25	DNOP-d ₄
	447 > 289	17	10	
	447 > 307	17	10	
DMP-d ₄	199 > 167	10	8	—
DEP-d ₄	227 > 153	10	12	—
DBP-d ₄	283 > 153	16	14	—
BBP-d ₄	317 > 91	15	22	—
DEHP-d ₄	395 > 153	18	20	—
DNOP-d ₄	395 > 153	18	18	—

* 定量離子對