

高效液相層析串聯質譜法分析食品中之防腐劑

蔡佳芬 郭景豪 黃立宇 曾素香 蘇淑珠 關麗卿

研究檢驗組

摘要

本研究建立以高效液相層析串聯質譜法(liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC/MS/MS)利用負離子電灑法以多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式同時檢測食品中苯甲酸(benzoic acid)、對羥苯甲酸(*p*-hydroxy-benzoic acid)、水楊酸(salicylic acid)、對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxybenzoate)及對羥苯甲酸丙酯(propyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丙酯(isopropyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸丁酯(butyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丁酯(isobutyl *p*-hydroxybenzoate)及對羥苯甲酸間丁酯(sec-butyl *p*-hydroxybenzoate) 10項防腐劑之檢驗方法。精確量取檢體5 g加水與甲醇(1 : 1, v/v)溶液30 mL，振盪30分鐘，以去離子水定容至50 mL，混勻，於4000 rpm離心10分鐘，取上清液經0.22 μm濾膜過濾後，使用Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μm, 4.6 × 100 mm)層析管柱，以0.1%甲酸溶液與含0.1%甲酸之甲醇為移動相進行梯度流洗，再以串聯質譜儀分析。泡麵類食品添加防腐劑混合標準溶液，使其添加濃度為0.01、0.02、0.04 g/kg，行三重複試驗，回收率介於60-115%，變異係數小於20%。

關鍵詞：高效液相層析串聯質譜法、防腐劑

前言

行政院衛生署民國97年11月20日以衛署食字第0970405591號令發布「食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」，規範防腐劑於各種正面表列食品之限量標準。經多次修正，目前已核准使用之防腐劑種類有：己二烯酸(sorbic acid)、己二烯酸鉀(potassium sorbate)、己二烯酸鈉(sodium sorbate)、丙酸鈣(calcium propionate)、丙酸鈉(sodium propionate)、去水醋酸(dehydroacetic acid)、去水醋酸鈉(sodium dehydroacetate)、苯甲酸(benzoic acid)、苯甲酸鈉(sodium benzoate)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸丙酯(propyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥

苯甲酸丁酯(butyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丙酯(isopropyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丁酯(isobutyl *p*-hydroxybenzoate)、聯苯(biphenyl)、二醋酸鈉(sodium diacetate)、己二烯酸鈣(calcium sorbate)、苯甲酸鉀(potassium benzoate)、乳酸鏈球菌素(nisin)、雙十二烷基硫酸硫胺明(thiamine dilaurylsulfate)、丙酸(propionic acid)、鏈黴菌素(natamycin)及對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate) 23種⁽¹⁾。其中可使用防腐劑之食品包括有魚肉煉製品、肉製品、海膽、魚子醬、花生醬、醬菜類、水分含量25%以上之蘿蔔乾、醃漬蔬菜、豆皮豆乾類、乾酪、煮熟豆、醬油、味噌、烏魚子、魚貝類乾製品、海藻醬類、豆腐乳、糖漬果實類、脫水水果、糕餅、

果醬、果汁、乳酪、奶油、人造奶油、番茄醬、辣椒醬、濃糖果漿、調味糖漿、非碳酸飲料、碳酸飲料、醋、麵包、糕餅、鮮果、果菜之外皮、包裝之軟糖果、湯、湯粉以及葡萄柚、檸檬及柑桔外敷之紙張等。

民國90年1月9日行政院衛生署以衛署食字第0900002652號及98年8月13日以署授食字第0981800288號公告指定中華民國國家標準 CNS 10949 N6190「食品中防腐劑之檢驗法」⁽²⁾，該方法之高效能液相層析儀的分析條件分爲兩種，第一類：水楊酸(salicylic acid)、苯甲酸(benzoic acid)、對羥苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)、己二烯酸(sorbic acid)、去水醋酸(dehydroacetic acid)；第二類：對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸丙酯(propyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丙酯(isopropyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸丁酯(butyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸異丁酯(isobutyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸間丁酯(sec-butyl *p*-hydroxybenzoate)。因應檢驗科技之進步及檢驗分析技術倚重液相層析質譜儀^(3,4)之發展趨勢，爲使檢驗方法與時俱進，已於98年研究建立以高效液相層析串聯質譜法(liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC/MS/MS)利用正/負離子電灑法(positive/negative mode)以多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式，同時檢測酒類及醃漬類食品中苯甲酸(benzoic acid)、己二烯酸(sorbic acid)、去水醋酸(dehydroacetic acid)、水楊酸(salicylic acid)、對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxybenzoate) 5項防腐劑之檢驗方法⁽⁵⁾。本研究持續建立以高效液相層析串聯質譜儀同時檢測10種防腐劑之檢驗方法，以達提升檢驗效能之目的。

材料與方法

一、樣品來源

於99年8至10月間，由台北縣衛生局抽驗印尼產製之泡麵檢體8件，依其內容物之不同，每件再細分爲麵及調味料包等6件檢體，共計48件。

二、試藥

苯甲酸(benzoic acid)(純度99.5%)、對羥苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)(99%)、水楊酸(salicylic acid)(99.5%)、對羥苯甲酸甲酯(methyl *p*-hydroxybenzoate)(99%)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl *p*-hydroxy benzoate)(99%)、對羥苯甲酸丙酯(propyl *p*-hydroxybenzoate)(99%)、對羥苯甲酸丁酯(butyl *p*-hydroxybenzoate)(99%)，均採用試藥級，購自日本Nacalai Tesque株式會社；對羥苯甲酸異丙酯(isopropyl *p*-hydroxybenzoate)(99%)、對羥苯甲酸異丁酯(isobutyl *p*-hydroxybenzoate)(99%)、對羥苯甲酸間丁酯(sec-butyl *p*-hydroxybenzoate)(98%)，均採用試藥特級，購自日本東京化成販賣株式會社；乙腈採用LC級，購自德國Merck公司。

三、器具

定量瓶、濾膜(0.22 μm，25 mm，Nylon，美國Titan公司)、液相層析管柱(Poroshell 120 EC-C18，4.6 × 100 mm，2.7 μm，美國Agilent公司)。

四、設備

液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)：液相層析系統爲Dionex Corporation (Sunnyvale, CA, USA)之UltiMate® 3000 Standard LC Systems。三段串聯四極式質譜儀爲Applied Biosystems (Foster City, CA, USA)之API 3200 LC/MS/MS System，離子源採電灑法(electron spray ionization, ESI)，同時搭配Analyst®軟體之電腦系統。高速振盪器(Eyela, MMS-510, Rikakikai Co. LTD., Japan)。

五、標準溶液之配製

精確稱取苯甲酸、對羥苯甲酸、水楊酸、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸異丙酯、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯、對羥苯甲酸間丁酯10種防腐劑標準品各0.1 g，以去離子水溶解並定容至100 mL，作為標準原液(1000 µg/mL)，低溫貯藏。使用時分別取適量標準原液，以去離子水稀釋成0.05-10 µg/mL之混合標準溶液。

六、檢液之調製

精確量取檢體5 g，加甲醇：去離子水(1：1, v/v)溶液30 mL，400 rpm振盪30分鐘，以去離子水定容至50 mL，混勻，於4000 rpm離心10分鐘後，取上清液經0.22 µm濾膜過濾，供作檢液。

七、高效液相層析串聯質譜條件

(一)液相層析儀

層析管柱：Agilent, Poroshell 120 EC-C18，
4.6 × 100 mm，2.7 µm

移動相：A液：含10 mM醋酸銨之去離子水溶液；B液：含10 mM醋酸銨之甲醇溶液，移動相梯度如表一

層析管柱溫度：30°C

流速：1 mL/min

注入量：10 µL

表一、液相層析流動相梯度

時間(min)	流速(mL/min)	移動相組成	
		A (%)	B (%)
0	1.0	95	5
2	1.0	60	40
12	1.0	45	55
25	1.0	40	60
25	1.0	95	5
28	1.0	95	5

A液：含10 mM醋酸銨之去離子水溶液

B液：含10 mM醋酸銨之甲醇溶液

(二)串聯質譜儀(離子源採電灑法離子化，偵測負離子)

離子噴霧電壓(Ionspray voltage)：4500 V

游離源溫度(Source temperature)：600°C

偵測模式：多重反應偵測模式(multiple reaction monitoring mode, MRM)，分析參數詳表二

表二、質譜儀之分析參數

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
苯甲酸	121	77	-40	-15
	121	121 ^a	-40	-5
對羥苯甲酸	137	65 ^a	-27	-40
	137	93	-27	-16
水楊酸	137	65	-32	-41
	137	93 ^a	-32	-26
對羥苯甲酸甲酯	151	92 ^a	-37	-29
	151	136	-37	-20
對羥苯甲酸乙酯	165	92 ^a	-30	-31
	165	137	-30	-18
對羥苯甲酸丙酯	179	92 ^a	-38	-32
	179	137	-38	-19
對羥苯甲酸異丙酯	179	92 ^a	-38	-32
	179	137	-38	-20
對羥苯甲酸丁酯	193	92 ^a	-39	-32
	193	136	-39	-22
對羥苯甲酸異丁酯	193	92 ^a	-39	-32
	193	136	-39	-21
對羥苯甲酸間丁酯	193	92 ^a	-39	-32
	193	136	-39	-21

a: 定量離子

八、標準曲線之製作

取防腐劑混合標準溶液，分別進行LC/MS/MS分析，以波峰面積對濃度作圖，繪製成標準曲線。

九、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各10 µL，進行高效

液相層析串聯質譜分析，依前述條件進行分析，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(表三)⁽⁶⁾鑑別之，並依下列計算式求得檢體中各防腐劑之含量(g/kg)。

$$\text{檢體中防腐劑濃度(g/kg)} = C \times \frac{V}{V_S}$$

C：由標準曲線求得防腐劑之濃度(mg/mL)

V：檢液定容之體積(mL)

Vs：取樣分析檢體之重量(g)

表三、質譜分析之相對離子強度最大可容許範圍⁽⁶⁾

相對離子強度 Relative intensity (% of base peak)	液相層析串聯質譜儀 之容許範圍 Tolerance range (%)
> 50	± 20
20 to 50	± 25
10 to 20	± 30
≤ 10	± 50

十、添加回收試驗

取泡麵檢體，分別加入防腐劑混合標準溶液，使其濃度為0.01、0.02、0.04 g/kg，依檢液之調製流程操作後，以LC/MS/MS進行分析，同時進行空白試驗，以檢液所得各防腐劑離子碎片質量波峰之滯留時間及面積，分別與標準溶液比較鑑別並定量之，求出回收率。

十一、基質效應(matrix effect)

基質效應參考曾等人於2010年發表之方法⁽⁵⁾，分別以下列方式建立檢量線：

(一)標準品之檢量線(standard calibration curve, SCC)：防腐劑混合標準品配製濃度為0.1、1、5、10 mg/L。

(二)空白基質萃取後添加之檢量線(matrix matched calibration curve, MCC)：取空白麵體萃取液添加防腐劑混合標準品使其最終濃度為0.1、1、5、10 mg/L。

(三)基質效應計算公式如下：

$$\text{基質效應} = (\text{MCC之斜率} - \text{SCC之斜率}) / \text{SCC之斜率} \times 100\%$$

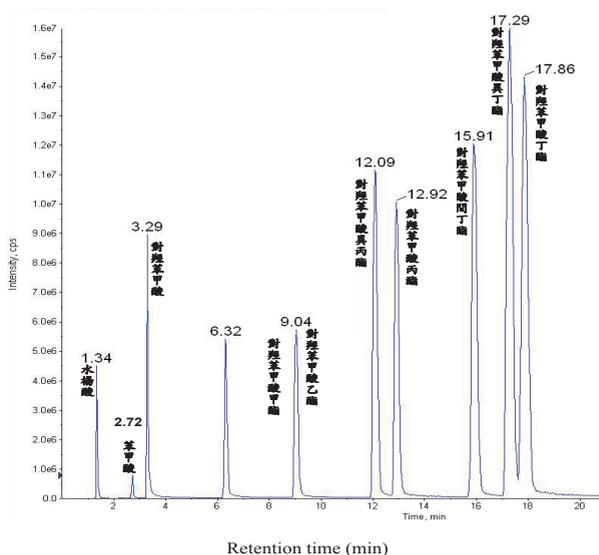
十二、定量極限之評估

取經均質之空白檢體，精確稱定，加入適當標準溶液，靜置20分鐘，依所建立之方法製備檢液並以LC/MS/MS分析。以每種防腐劑之離子訊號與雜訊之比值(S/N ratio)大於10作為定量極限(limit of quantification, LOQ)。

結果與討論

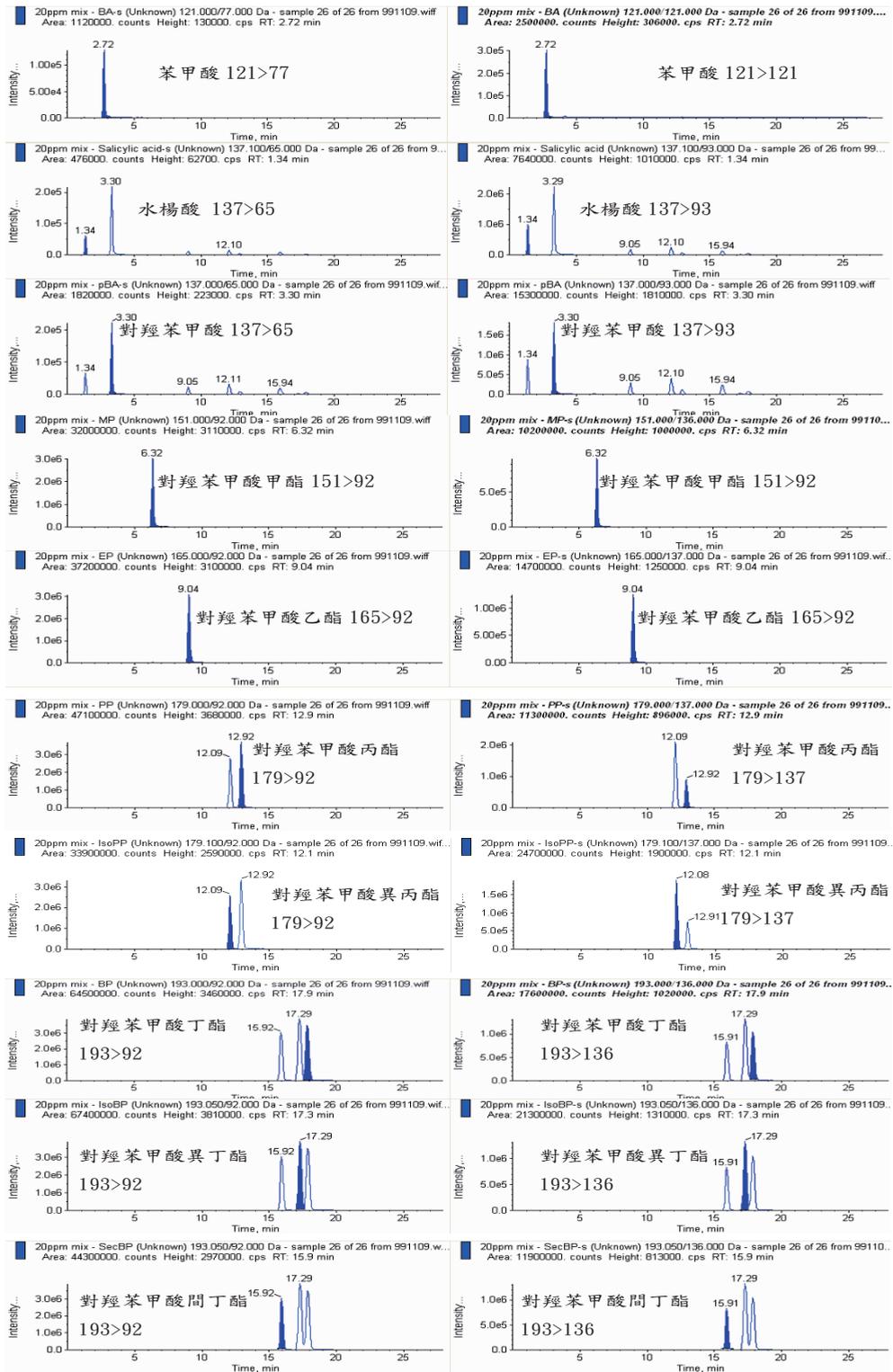
一、質譜儀之最適分析條件

本研究利用電灑游離法作為離子源，並以MRM模式同時檢測食品中10種防腐劑，包括苯甲酸、對羥苯甲酸、水楊酸、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸異丙酯、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯及對羥苯甲酸間丁酯，圖一及二為濃度20 μg/mL之10種防腐劑標準品混合溶液之總離子層析圖及質譜圖。溶媒揮散及進樣氣體皆為氮氣，離子噴霧電壓(Ionspray voltage)為4500 V，游離源溫度(Source temperature)為600°C。



圖一、10種防腐劑之質譜總離子層析圖(20 μg/mL)

高效液相層析串聯質譜法分析食品中之防腐劑

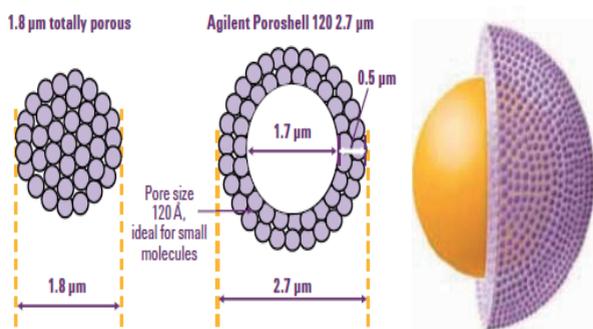


圖二、10種防腐劑之多重反應偵測層析圖譜

母離子於碰撞室(collision cell)以氮分子碰撞，誘導解離為子離子，再經由第二段質量分析器偵測合適之子離子，以獲得最大偵測感度，由母離子A碰撞誘導產生子離子B，稱為mass transition，以A>B表示。本研究10種防腐劑選定之母離子皆為[M+H]⁺。由母離子所形成的碎片中，挑選具分子特異性且訊號較強之子離子做為MRM偵測離子，以訊號較強之子離子進行定量。如對羥苯甲酸之母離子為m/z 137，子離子選定m/z 65及m/z 93，其mass transition即為m/z 137>65及m/z 137>93。本研究10種防腐劑之偵測離子對如表三所示，選定之最佳進樣錐電壓介於27-40 V，碰撞能量介於5-41 eV。

二、液相層析之最適分析條件

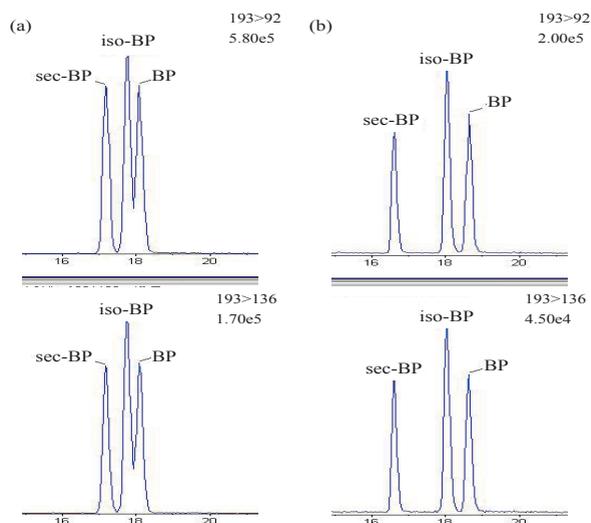
本研究使用之Poroshell 120 EC-C18管柱，由1.7 μm直徑的實心矽膠核和0.5 μm厚孔徑120Å的多孔外層組成(圖三)。進行分析時，其理論板數具有1.8 μm填充管柱的性能優勢，而壓力卻僅與3 μm填充管柱相當。因此在HPLC上使用此EC-C18管柱，較一般C-18 LC管柱，具有高分離度，分析快速及節省溶劑使用等優點。



圖三、Poroshell 120 EC-C18管柱之多孔外層組成

移動相之組成，文獻所使用之移動相大多以水、乙腈及甲醇等相互搭配，修飾劑大多選用甲酸、醋酸銨⁽⁴⁾。本研究移動相修飾劑選用10 mM醋酸銨，移動相比較水搭配甲醇及水搭配乙腈二種組合，結果以水搭配甲醇分離效果較佳，其中

以對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯及對羥苯甲酸間丁酯之分離最為明顯，該三種防腐劑為異構物，mass transition皆為m/z 193>92及m/z 193>136，滯留時間十分接近，移動相採用水搭配乙腈無法分離對羥苯甲酸丁酯及對羥苯甲酸異丁酯，對羥苯甲酸間丁酯波峰亦十分接近，移動相改用水搭配甲醇分離效果較佳且能得到良好分離(圖四)。



圖四、移動相組成對對羥苯甲酸丁酯(BP)、對羥苯甲酸異丁酯(iso-BP)及對羥苯甲酸間丁酯(sec-BP)分離效果之比較。(a)移動相為乙腈/水(含10 mM醋酸銨)，(b)移動相為甲醇/水(含10 mM醋酸銨)組成

本研究以含10 mM醋酸銨之水溶液及含10 mM醋酸銨之甲醇溶液進行梯度分析，梯度程式如表一所示，流速為0.3 mL/min，注入量為10 μL，於30分鐘可完成10種防腐劑分析，解析度良好，皆可得良好峰形(圖二)。此10種防腐劑可分為3組異構物：水楊酸、對羥苯甲酸(mass transition皆為m/z 137>65及137>93)；對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸異丙酯(mass transition皆為m/z 179>92及179>137)；對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯、對羥苯甲酸間丁酯(mass transition皆為m/z 193>92及193>136)，皆能良好分離，不致干擾。

三、標準曲線

10種防腐劑混合標準品濃度在0.05-5 mg/L間所繪製之標準曲線公式如表四。

四、基質效應

以LC/MS/MS進行定量，與分析物共同沖提出之基質干擾物(co-eluting matrix compound)會影響分析物於質譜儀之離子化情形，可能造成抑制或增強訊號，稱為基質效應(matrix effect)。為評估基質效應，分別製作標準曲線(standard curve)及基質匹配檢量線(matrix matched calibration curves)，並比較其斜率。標準曲線為溶於50%甲醇溶液之混合標準溶液，濃度範圍分別為0.1-10 mg/L。基質匹配檢量線為泡麵麵條檢體，依建立方法進行檢液製備，並添加10種防腐劑標準品溶液，使各檢液之防腐劑濃度分別相當於為0.1-10 mg/L。比較結果如表四、五。10種防腐劑標準曲線(0.05-5 mg/L)(表四)及基質匹配檢量線(0.1-10 mg/L)(表五)之線性迴歸方程式之相關係數(correlation coefficient, R^2)皆在0.99以上，顯示於該濃度範圍內線性關係良好。而基質效應之結果顯示，除苯甲酸為-10.28%外，其餘9種防腐劑於泡麵麵條中無明顯基質效應。

表四、標準品標準曲線之公式

防腐劑	$y = ax + b$	R^2
苯甲酸	$y = 72900x - 4740$	0.9996
水楊酸	$y = 398000x + 100000$	0.9986
對羥苯甲酸	$y = 682000x + 833000$	0.9841
對羥苯甲酸甲酯	$y = 569000x + 73200$	0.9996
對羥苯甲酸乙酯	$y = 553000x + 58000$	0.9998
對羥苯甲酸丙酯	$y = 592000x - 13400$	0.9988
對羥苯甲酸異丙酯	$y = 990000x + 41100$	0.9962
對羥苯甲酸丁酯	$y = 1120000x - 46000$	0.9996
對羥苯甲酸異丁酯	$y = 1270000x + 10400$	0.9998
對羥苯甲酸間丁酯	$y = 1660000x + 34000$	0.9983

Linear Range: 0.05-5 mg/L

五、添加回收試驗

於泡麵類食品中分別加入防腐劑混合標準溶液，使其濃度為0.01、0.02、0.04 g/kg，經前處理步驟後，所得之添加回收試驗結果如表六所示，其回收率介於60-115%之間，變異係數介於1.2-16.1%之間。

六、檢出限量

本檢驗方法苯甲酸、水楊酸、對羥苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸異丙酯、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯及對羥苯甲酸間丁酯之檢出限量如表七所示，遠低於法規訂定之用量標準。另外與公告方法之中高效液相層析之檢出限量0.02 g/kg比，本方法具有更佳之敏感度。

七、泡麵檢體中防腐劑之含量

於99年8至10月間，由台北縣衛生局抽驗印尼泡麵檢體8件，依其內容物之不同，每件細分為麵及辣椒、脆蔥調味包、辣油包、醬油包、脆洋蔥5個調味包檢體，共計48件。檢驗結果，麵檢出苯甲酸 $<0.005-0.16$ g/kg，辣椒包檢出苯甲酸0.14-0.48 g/kg，脆蔥調味包檢出苯甲酸0.16-0.17 g/kg，辣油包檢出苯甲酸 $<0.02-0.18$ g/kg，醬油包檢出苯甲酸0.57-0.97 g/kg及對羥苯甲酸甲酯0.19-0.31 g/kg，脆洋蔥檢出苯甲酸 $<0.005-0.43$ g/kg，調味粉包檢出苯甲酸 $<0.005-0.20$ g/kg，油包檢出苯甲酸 $<0.005-0.03$ g/kg，依當時尚未修定之規定標準判定，不合格比例逾60%，其中醬油檢出我國當時仍未准用之對羥苯甲酸甲酯，結果已由該轄衛生局處辦。衛生署並於100年2月18日署授食字第1001300333號令修正增加對羥苯甲酸甲酯為防腐劑准用品項，可使用於豆皮豆乾類及醬油，用量以

p-Hydroxybenzoic Acid計為0.25 g/kg以下；使用於醋及不含碳酸飲料，用量以

p-Hydroxybenzoic Acid計為0.10 g/kg以下；使用於鮮果及果菜之外皮，用量以

p-Hydroxybenzoic Acid計為0.012 g/kg

表五、基質效應之影響情形

防腐劑	standard calibration curve	R ²	matrix matched calibration curve	R ²	基質效應(%)
苯甲酸	y = 67838x + 6270.8	0.9980	y = 60864x + 18773	0.9985	-10.28
水楊酸	y = 614921x + 564193	0.9753	y = 616893x + 758508	0.9664	0.32
對羥苯甲酸	y = 680629x + 672468	0.9723	y = 663243x + 805198	0.9665	-2.55
對羥苯甲酸甲酯	y = 553120x + 79593	0.9984	y = 558495x + 161056	0.9971	0.97
對羥苯甲酸乙酯	y = 1000000x - 36340	0.9998	y = 1000000x + 357998	0.9956	0.00
對羥苯甲酸丙酯	y = 910267x - 55551	0.9996	y = 934822x - 9332.2	0.9994	2.70
對羥苯甲酸異丙酯	y = 537628x + 61695	0.9984	y = 552256x + 71121	0.9990	2.72
對羥苯甲酸丁酯	y = 1000000x + 92817	0.9996	y = 1000000x + 179085	0.9992	0.00
對羥苯甲酸異丁酯	y = 2000000x + 132706	0.9998	y = 2000000x + 327987	0.9983	0.00
對羥苯甲酸間丁酯	y = 785574x + 168563	0.9957	y = 809235x + 184581	0.9958	3.01

註：基質效應=(MCC之斜率 - SCC之斜率)/SCC之斜率× 100%

SCC：標準品之檢量線(standard calibration curve)

MCC：空白基質萃取後添加之檢量線(matrix matched calibration curve)

表六、麵條基質防腐劑添加回收情形

防腐劑	Spiked level (g/kg)	Recovery (%)	CV (%)
苯甲酸	0.01	66.8	13.0
	0.02	80.4	9.4
	0.04	96.3	7.1
水楊酸	0.01	78.7	11.4
	0.02	95.3	3.9
	0.04	111.5	1.2
對羥苯甲酸	0.01	75.8	6.9
	0.02	85.7	3.5
	0.04	96.8	2.6
對羥苯甲酸甲酯	0.01	75.6	12.5
	0.02	90.3	4.7
	0.04	106.2	2.1
對羥苯甲酸乙酯	0.01	71.6	11.3
	0.02	86.2	4.7
	0.04	101.9	2.6
對羥苯甲酸丙酯	0.01	70.0	11.2
	0.02	84.8	8.3
	0.04	101.4	3.7
對羥苯甲酸異丙酯	0.01	73.0	13.1
	0.02	85.8	4.0
	0.04	98.2	2.6
對羥苯甲酸丁酯	0.01	60.1	9.9
	0.02	73.5	14.9
	0.04	85.8	2.3
對羥苯甲酸異丁酯	0.01	65.8	16.1
	0.02	79.0	8.0
	0.04	93.8	4.6
對羥苯甲酸間丁酯	0.01	69.5	12.5
	0.02	82.9	2.9
	0.04	97.8	1.8

表七、本研究之方法檢出限量與公告用量標準之比較

防腐劑	食品添加物使用範圍及限量暨規格標準中防腐劑於各種正面表列食品之用量標準(g/kg)	LOQ (g/kg)
苯甲酸	1.0 g/kg (以 benzoic Acid 計)	0.005
水楊酸	不得使用	0.001
對羥苯甲酸	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸甲酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸乙酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸丙酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸異丙酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸丁酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸異丁酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001
對羥苯甲酸間丁酯	0.10 g/kg (以 <i>p</i> -hydroxybenzoic Acid 計)	0.001

以下。

結 論

本研究建立以液相層析串聯質譜法(LC/MS/MS)同時分析食品中10種防腐劑(苯甲酸、對羥苯甲酸、水楊酸、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸丁酯、對羥苯甲酸異丁酯及對羥苯甲酸間丁酯)之分析方法。相較於公告方法之高效液相層析法進行防腐劑檢驗時，其結果易有基質干擾，而造成鑑別上困擾，本研究透過串聯質譜儀於定性

上之優勢，可準確鑑別防腐劑，且因方法之流程簡短，回收率及再現性均佳，可應用於例行性檢驗工作。

參考文獻

1. 行政院衛生署。2011。食品添加物使用範圍及限量暨規格標準。100.07.05署授食字第1001301966號令修正。
2. 經濟部標準檢驗局。2001食品中防腐劑之檢驗法。中華民國國家標準總號10949，類號N6190。
3. Ujiie, A., Hasebe, H., Chiba, Y. and Yanagita, N. 2007. Simultaneous determination of 7 kinds of preservatives and saccharin in foods with HPLC, and identification with LC/MS/MS. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* (Shokuhin Eiseigaku Zasshi) 6(48): 163-169.
4. Horiyama, S., Honda, C., Suwa, K., Umemoto, Y., Okada, Y., Semma, M., Ichikawa, A. and Takayama, M. 2008. Sensitive and simple analysis of sorbic acid using liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Chem. Pharm. Bull.* 56(4): 578-581.
5. 曾仁鴻、蔡佳芬、潘志寬、施養志。2010。酒類及醃漬類食品中防腐劑檢驗方法之建立。食品檢驗科技研討會壁報論文發表。
6. Office for official publications of the European Communities. Commission Decision 2002/657/EC. Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results.

Determination of Preservatives in Foods by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry

CHIA-FEN TSAI, CHING-HAO KUO, LI-YU HUANG, SU-HSIANG TSENG,
SHU-CHU SU AND LIH-CHING CHIUEH

Division of Research and Analysis

ABSTRACT

A method for the analysis of 10 preservatives in foods by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) with electrospray ionization was developed. Data acquisition under MS/MS for every preservative was achieved by applying multiple reaction monitoring (MRM). Benzoic acid, *p*-hydroxy-benzoic acid, salicylic acid, methyl *p*-hydroxybenzoate, ethyl *p*-hydroxybenzoate, propyl *p*-hydroxybenzoate, isopropyl *p*-hydroxybenzoate, butyl *p*-hydroxybenzoate, isobutyl *p*-hydroxybenzoate and sec-butyl *p*-hydroxybenzoate were extracted from foods with 50% methanol (v/v), and analyzed by LC/MS/MS with electrospray ionization. The LC separation was conducted on an Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μ m, 4.6 \times 100 mm) column with gradient elution of 0.1% formic acid in water and methanol as the mobile phase. The recoveries of 10 preservatives (0.01, 0.02 and 0.04 g/kg) spiked in instant noodles ranged from 60 to 115% and the coefficients of variation of all preservatives were below 20%.

Key words: liquid chromatography/tandem mass spectrometry, preservatives