

醬油類中 3-單氯丙二醇之檢驗方法(草案)

Method of Test for 3-Monochloro-1,2-Propanediol in Soy Sauce

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於醬油及以醬油為主調製而成之調味製品中 3-單氯丙二醇(3-monochloro-1,2-propanediol)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取、淨化及衍生化後，以氣相層析串聯質譜儀 (gas chromatograph/tandem mass spectrometer, GC/MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 氣相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電子撞擊離子化(electron impact ionization, EI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：HP-5MS 毛細管，內膜厚度 0.25 μm ，內徑 0.25 mm \times 30 m，或同級品。
 - 2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.3. 振盪水浴(Shaking bath)。
 - 2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.5. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.2. 試藥：

乙酸乙酯及正己烷均採用殘量級；無水硫酸鈉、氯化鈉及七氟丁醯基咪唑(heptafluorobutyryl imidazole, HFBI)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 可達 18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；3-單氯丙二醇(3-monochloro-1,2-propanediol, 3-MCPD)對照用標準品；3-MCPD 同位素內部標準品(3-MCPD- d_5)。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 液/液萃取匣(Liquid/liquid extraction cartridge)：多孔性矽藻土，Extrelut NT 20，檢液負荷量 20 mL，附流速控制閥，或同級品。
 - 2.3.2. 反應瓶：5 mL，Pyrex 材質，附 Teflon 墊片螺旋蓋。
 - 2.3.3. 氣密式注射針：100 μL 。
 - 2.3.4. 濃縮瓶：500 mL。
 - 2.3.5. 容量瓶：5 mL 及 100 mL。
 - 2.4. 5M 氯化鈉溶液之調製：

稱取氯化鈉 146 g，以去離子水溶解使成 500 mL。
 - 2.5. 內部標準溶液之配製：

取 3-MCPD-d₅ 約 100 mg，精確稱定，以正己烷溶解並定容至 100 mL，作為內部標準原液，於-18°C 貯存備用。臨用時，取適量內部標準原液以正己烷稀釋至濃度為 10 µg/mL，供作內部標準溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取 3-MCPD 對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以乙酸乙酯溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，於-18°C 貯存備用；臨用時，取適量標準原液經氮氣吹乾後，以正己烷溶解並稀釋至 1 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 衍生化標準溶液之配製：

精確量取標準溶液 50~800 µL，分別置於反應瓶中，加入內部標準溶液 20 µL，再加入正己烷使成 1000 µL，緊閉螺旋蓋，混合均勻後，以氣密式注射針精確量取 HFBI 50 µL 注入反應瓶中，於 70°C 水浴中振盪反應 20 分鐘，冷卻後，加入去離子水 2 mL，旋渦混合 30 秒，取正己烷層，加入無水硫酸鈉 300 mg 脫水，取上層液，供作衍生化標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

2.8.1. 萃取：

將檢體混勻後，取約 5 g，精確稱定，加入內部標準溶液 0.1 mL 及 5M 氯化鈉溶液 15 mL，以超音波振盪 15 分鐘，倒入液/液萃取匣，靜置 15 分鐘，以乙酸乙酯 250 mL 分次沖提，收集沖提液，加入無水硫酸鈉 30 g 脫水，靜置 15 分鐘，過濾。濾液以無水硫酸鈉 50 g 脫水，過濾後，再以乙酸乙酯 50 mL 清洗無水硫酸鈉，合併濾液與洗液，於 40°C 水浴中減壓濃縮至約 3 mL，以乙酸乙酯定容至 5 mL。再加入無水硫酸鈉 300 mg 脫水，靜置 15 分鐘，取上層液，供衍生化用。

2.8.2. 衍生化：

取 2.8.1. 節衍生化用溶液 1 mL，置於反應瓶中，以氮氣吹乾後，加入正己烷 1 mL，緊閉螺旋蓋，溶解混勻後，以氣密式注射針精確量取 HFBI 50 µL 注入反應瓶中，以下步驟同 2.7. 節操作，供作檢液。

2.9. 標準曲線之製作：

精確量取衍生化標準溶液各 1 µL，注入氣相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就 3-MCPD 與內部標準品之波峰面

積比，與對應之 3-MCPD 濃度，製作標準曲線。

氣相層析串聯質譜分析測定條件^(註)

層析管溫度：初溫：50°C，2 min；

溫度上升速率：5°C/min；

中溫：100°C；

溫度上升速率：30°C/min；

終溫：280°C，5 min。

移動相氮氣流速：1 mL/min。

注入器溫度(Injector temperature)：250°C。

注入模式(Inject mode)：不分流(splitless)。

離子化模式：電子撞擊(EI)，70 eV。

離子源溫度：250°C。

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

偵測離子對及碰撞能量如下表：

分析物	定量離子對		定性離子對	
	前驅離子(m/z) 產物離子(m/z)	碰撞 能量 (eV)	前驅離子(m/z) 產物離子(m/z)	碰撞 能量 (eV)
3-MCPD	289 > 75	8	289 > 253	6
3-MCPD-d ₅	294 > 79	8	—	—

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：

精確量取檢液與衍生化標準溶液各1 μL，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依2.9節條件進行分析，就檢液與衍生化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^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中3-MCPD之含量(ppm)：

$$\text{檢體中 3-MCPD 含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中 3-MCPD 之濃度(μg/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為 0.05 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。