

飲料中黃樟素之檢驗方法

Method of Test for Safrole in Soft Drinks

1. 適用範圍：本檢驗方法適用飲料中黃樟素(safrole)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，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：電子撞擊游離(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. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.3. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：可達3000 $\times g$ 以上，控制溫度可達15 $^{\circ}\text{C}$ 以下者。
 - 2.2. 試藥：乙酸乙酯及甲醇均採用氣相層析級；黃樟素對照用標準品；異黃樟素(isosafrole)內部標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 容量瓶：10 mL。
 - 2.4. 內部標準溶液之配製：

取異黃樟素內部標準品約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，避光冷藏貯存。臨用時取適量內部標準原液，以甲醇稀釋至100 $\mu\text{g/mL}$ ，供作內部標準溶液。
 - 2.5. 標準溶液之配製：

取黃樟素對照用標準品約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏避光貯存。臨用時取適量標準原液及內部標準溶液，以乙酸乙酯稀釋至0.05~1.0 $\mu\text{g/mL}$ (含內部標準品濃度0.5 $\mu\text{g/mL}$)，供作標準溶液。

2.6. 檢液之調製：

檢體預先以超音波振盪10分鐘移除二氧化碳，將檢體混勻，取約10 g，置於離心管中，精確稱定，加入內部標準溶液50 μ L，加入乙酸乙酯溶液10 mL，振盪5分鐘後，於15 $^{\circ}$ C，以3000 $\times$ g離心10分鐘，取上層液，供作檢液。

2.7. 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液1 μ L，注入氣相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就黃樟素與內部標準品之波峰面積比，與對應之黃樟素濃度，製作標準曲線。

氣相層析串聯質譜分析測定條件^(註)：

層析管：HP-5MS毛細管，內膜厚度0.25 μ m，內徑0.25 mm $\times$ 30 m。

層析管溫度：初溫：70 $^{\circ}$ C，2 min；

升溫速率：10 $^{\circ}$ C/min；

中溫：180 $^{\circ}$ C；

升溫速率：20 $^{\circ}$ C/min；

終溫：280 $^{\circ}$ C，2 min。

移動相流速：氦氣，1 mL/min。

注入量：1 μ L。

注入器溫度：240 $^{\circ}$ C。

介面溫度：280 $^{\circ}$ C。

離子源溫度：250 $^{\circ}$ C。

離子化模式：電子撞擊(EI)，70 eV。

注入模式：不分流(splitless)。

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	離子對	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	
黃樟素	162 > 104 [*]	12
	162 > 131	12

異黃樟素(I.S.)	162 > 104	12
------------	-----------	----

*定量離子對

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。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各1 μL，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依2.7.節條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及選擇性離子偵測相對離子強度^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中黃樟素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中黃樟素之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中黃樟素之濃度(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(≤100%)，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 10
> 20~50	± 15
> 10~20	± 20
≤ 10	± 50

附註：1. 本檢驗方法之定量極限為 0.05 ppm。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

Raffo, A., D'Aloise, A., Magri, A. L. and Leclercq, C. 2013. Quantitation of tr-cinnamaldehyde, safrole and myristicin in cola-flavoured soft drinks to improve the assessment of their dietary exposure. Food Chem. Toxicol. 59: 626-635.