

膠囊錠狀食品中檸檬酸三乙酯檢驗方法之建立

賴思羽 方俊仁 林巧欣 蔡佳芬 高雅敏 王德原 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

檸檬酸三乙酯為我國准用之食品添加物，列屬品質改良用、釀造用及食品製造用劑，依食品添加物使用範圍及限量暨規格標準之規定可使用於膠囊與錠狀食品，限量為3.5 g/kg。本研究建立以氣相層析串聯質譜儀進行膠囊與錠狀食品中檸檬酸三乙酯之檢驗方法，將檢體均質混勻，取約1 g，精確稱定，置於25 mL容量瓶中，加入10 µg/mL 1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯內部標準溶液1.25 mL及正己烷20 mL，超音波振盪10分鐘，以正己烷定容，經濾膜過濾，供作檢液。於空白檢體中添加適當檸檬酸三乙酯標準溶液，使成為0.25及1.25 mg/kg之添加量，進行回收率及重複性試驗。實驗結果檸檬酸三乙酯於0.25及1.25 mg/kg之回收率分別為112.4及103.6%，變異係數分別為3.47及4.29%，顯示方法之回收率良好、再現性高，本檢驗方法之定量極限為0.25 mg/kg，並已公開為建議檢驗方法供各界參考引用。利用本方法進行11件市售膠囊與錠狀食品之檸檬酸三乙酯分析，結果顯示有1件與標示不符，經後續追查係來自添加之香料所帶入。

關鍵詞：檸檬酸三乙酯、膠囊狀食品、錠狀食品、氣相層析串聯質譜儀

前言

檸檬酸三乙酯(Triethyl citrate, TEC)是檸檬酸與乙醇進行酯化反應而成，為無色透明液體，沸點294°C (101.3 kPa)，溶於大多數有機溶劑，微溶於水，難溶於油類。耐油性、耐光性、耐黴菌性佳。其應用廣泛，可被作用於纖維素類、乙烯基類等熱塑性樹脂的增塑劑，也應用於製造藥品、塗料及化粧品等。

檸檬酸三乙酯於食品使用為品質改良用、釀造用及食品製造用劑，依規定可用於膠囊與錠狀食品，限量為3.5 g/kg⁽¹⁾。根據「食品安全衛生管理法」第38條規定，各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包

裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之；未定檢驗方法者，得依國際間認可之方法為之。目前我國公告之食品檢驗方法中，並無檸檬酸三乙酯之檢驗方法。

國際間未見膠囊與錠狀食品中檸檬酸三乙酯之相關檢驗方法，本研究建立以氣相層析串聯質譜法(Gas chromatography tandem mass spectrometry, GC/MS/MS)利用電子游離法(Electron ionization, EI)進行離子化，並搭配多重反應偵測(Multiple reaction monitoring, MRM)模式檢測膠囊與錠狀食品中檸檬酸三乙酯之檢驗方法，方法建立後則公開供各界參考引用。

材料與方法

一、檢體來源

膠囊及錠狀食品共計11件，均於106年5月購自台北市之量販超市，於室溫儲放備用。

二、試藥

正己烷採用液相層析級(J.T. Baker, USA)；檸檬酸三乙酯對照用標準品及1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯(Triethyl 1,1,2-ethanetricarboxylate)內部標準品(Sigma-Aldrich, USA)。

三、儀器與裝置

- (一)氣相層析串聯質譜儀：氣相層析儀(Trace GC Ultra, Thermo Fisher Scientific, USA)、質譜儀(TSQ Quantum XLS, Thermo Fisher Scientific, USA)。
- (二)離子源：電子游離法離子化(Electron ionization, Thermo Fisher Scientific, USA)。
- (三)層析管柱(TG-SQC 0.25 mm × 15 m, 0.25 μm, Thermo Fisher Scientific, USA)。
- (四)超音波振盪器(Elma P120H, Singen, Germany)。

四、標準溶液之配製及標準曲線製作

- (一)內部標準溶液之配製：取1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯內部標準品約10 mg，精確稱定，以正己烷溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，冷藏避光貯存。臨用時，取適量內部標準原液，以正己烷稀釋至10 μg/mL，供作內部標準溶液。
- (二)標準溶液之配製：取檸檬酸三乙酯對照用標準品約10 mg，精確稱定，以正己烷溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏避光貯存。臨用時，取標準原液0.1 mL，以正己烷稀釋至10 mL，供作標準溶液。

(三)標準曲線之製作：精確量取檸檬酸三乙酯濃度為0.01-2 μg/mL (含內部標準品濃度0.5 μg/mL) 1 μL，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就檸檬酸三乙酯與內部標準品之波峰面積比，與對應之檸檬酸三乙酯濃度，製作標準曲線。

氣相層析串聯質譜測定條件：

層析管：TG-SQC，內膜厚度0.25 μm，內徑0.25 mm × 15 m

層析管溫度：初溫：50°C，0.5 min

升溫速率：30°C/min

終溫：300°C，3 min

移動相氮氣流速：1.2 mL/min

注入器溫度：230°C

注入模式：分流(Split)，20：1

介面溫度：250°C

離子源溫度：230°C

離子化模式：電子游離，70 eV

偵測模式：多重反應偵測，偵測離子對與碰撞能量(Collision energy)如表一

表一、偵測離子對與碰撞能量

分析物	離子對		碰撞能量(eV)
	前驅離子(m/z)	產物離子(m/z)	
檸檬酸三乙酯	157	> 115	10
	157	> 69 ^a	15
1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯	173	> 127	10
	173	> 99 ^a	15

^a定量離子對

五、檢液之調製

將檢體均質混勻，取約1 g，精確稱定，置於25 mL容量瓶中，加入1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯內部標準溶液(10 μg/mL) 1.25 mL及正己烷約20 mL，超音波振盪10分鐘，以正己烷定

容至25 mL，經PVDF濾膜過濾，供作檢液。

六、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各1 μ L，分別注入氣相層析質譜儀中，依四、(三)條件進行分析，就檢液與標準曲線溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度鑑別之，並依下列計算式求得檢體中檸檬酸三乙酯之含量(mg/kg)：

檢體中檸檬酸三乙酯之含量(mg/kg)=

$$\frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中檸檬酸三乙酯之濃度(μ g/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得($\leq 100\%$)，容許範圍如表二

表二、相對離子強度容許範圍

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

七、專一性評估

取空白檢體研磨成粉末，依五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行分析，確認無待測物干擾。

八、準確度及精密度評估

取空白檢體研磨成粉末，加入檸檬酸三乙酯標準溶液及內部標準溶液，使其濃度為0.25及1.25 mg/kg，含內部標準品濃度12.5 mg/kg，依五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，計算回收率及重複性，應符合食品藥物管理署(食藥署)「食品化學檢驗方

法之確效規範」⁽²⁾。

九、定量極限評估

取空白檢體研磨成粉末，加入檸檬酸三乙酯標準溶液及內部標準溶液，使檸檬酸三乙酯濃度為0.25 mg/kg，含內部標準品濃度12.5 mg/kg，依五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，就所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，應符合食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽²⁾。

十、市售產品之調查

以建立之檢驗方法進行11件市售膠囊及錠狀食品中檸檬酸三乙酯之檢驗。

結果與討論

一、專一性

取空白檢體研磨成粉末，依材料與方法五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行分析，層析圖如圖一，顯示無干擾待測物現象。

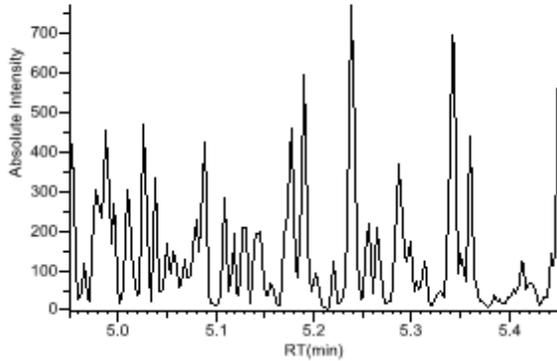
二、標準曲線線性

依材料與方法四、標準溶液之配製及標準曲線製作，標準溶液濃度範圍在0.01-2 μ g/mL間所繪製標準曲線如圖二，迴歸方程式為 $y = 1.0068x + 0.0056$ ，其 R^2 值在0.995以上，顯示在0.01-2 μ g/mL之濃度範圍內其線性關係良好。

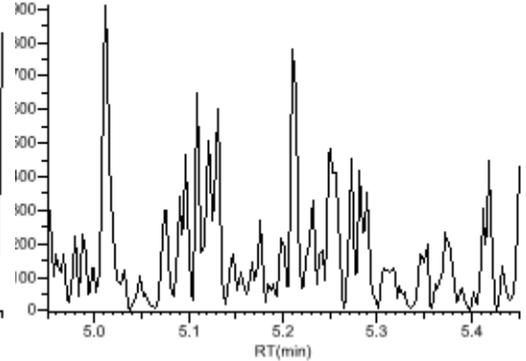
三、準確度及精密度

於空白檢體中添加檸檬酸三乙酯標準溶液，使其濃度為0.25及1.25 mg/kg，依材料與方法五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，以進行準確度及精密度之評估，計算回收率分別為112.4及103.6% (表

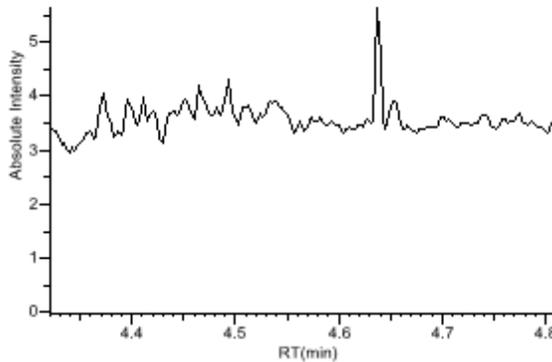
(A) 157 > 69a



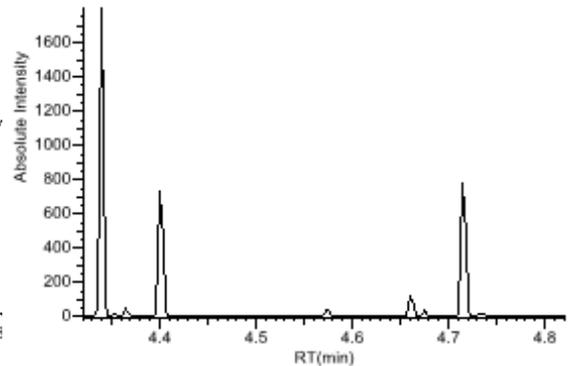
157 > 115



(B) 173 > 99a



137 > 127

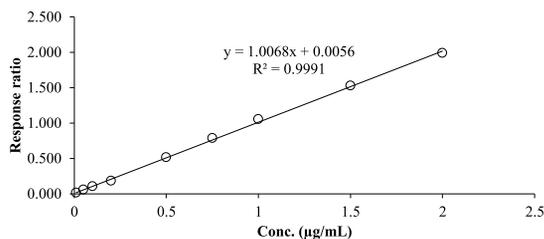


圖一、空白檢體之MRM圖譜

(A) 檸檬酸三乙酯之前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z) 為 157 > 115 及 157 > 69a ;

(B) 1,1,2-乙烷三羧酸三乙酯(內部標準品)之前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z) 為 173 > 127 及 173 > 99a

a. 定量離子對



圖二、檸檬酸三乙酯標準曲線之分析結果

三)，變異係數(Coefficient of variation, CV) 分別為3.47及4.29%，皆符合食藥署食品化學檢驗方法之確效規範⁽²⁾，顯示此方法具有良好之準確度及精密度。

四、定量極限

於空白檢體中添加檸檬酸三乙酯0.25 mg/kg，依材料與方法五、檢液之調製及六、鑑別

表三、空白檢體之添加回收試驗結果

添加量(mg/kg)	回收率(%) ^a	CV (%)
0.25	112.4	3.47
1.25	103.6	4.29

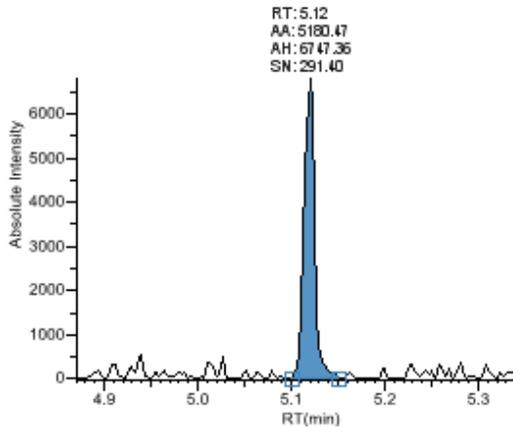
^a n=5

試驗及含量測定進行分析，層析圖如圖三所示，其訊噪比大於10，顯示檢體濃度0.25 mg/kg可作為本方法之定量極限。

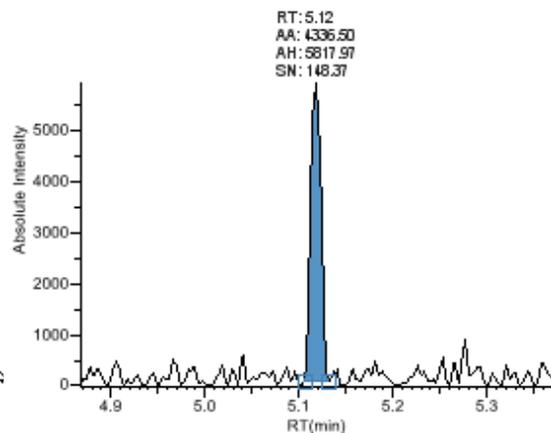
結 論

本檢驗方法之回收率及再現性均良好，標準曲線於濃度範圍0.01-2 µg/mL之R²值為0.995以上。於空白檢體中添加檸檬酸三乙酯標準溶液進行0.25及1.25 mg/kg濃度添加回收試驗，回收率分別為112.4及103.6%，顯示本方法之回收率、重複性及靈敏度皆相當良好，可提供做為膠囊及錠狀食品中檸檬酸三乙酯含量檢驗之用。

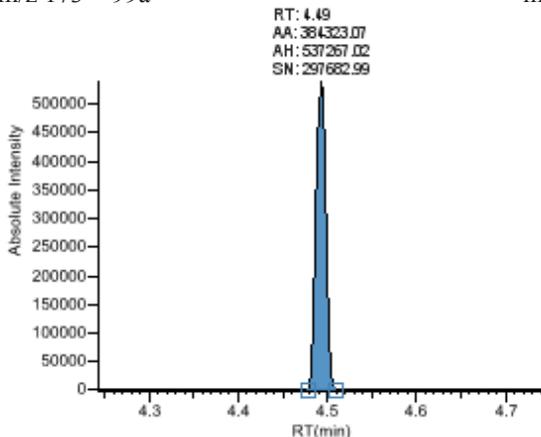
(A) m/z 157 > 69a



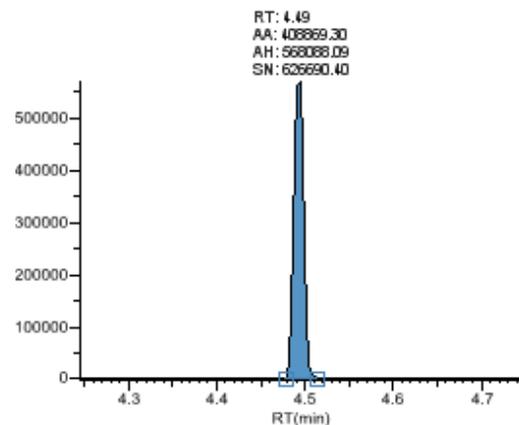
m/z 157 > 115



(B) m/z 173 > 99a



m/z 173 > 127



圖三、空白檢體添加0.25 mg/kg檸檬酸三乙酯之MRM圖譜

11件市售膠囊及錠狀食品中之檸檬酸三乙酯含量測定之檢驗結果，有1件檢出含有檸檬酸三乙酯，但其外包裝成分項並未標示含有檸檬酸三乙酯，經後續追查係來自添加之香料所帶入。

參考文獻

1. 衛生福利部。2018。食品添加物使用範圍及限量暨規格標準。107.06.19部授食字第1071301483號令修正。
2. 食品藥物管理署。2012。食品化學檢驗方法之確效規範。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=23232&t=s>]。
3. Budavári, Z., Porkoláb, Z. and Zelkó, R. 2004. Study of triethyl citrate migration from coating polymers to tablet cores. *Pharmazie*. 59: 893-894.

Determination of Triethyl Citrate in Foods in Capsule or Tablet form

SZU-YU LAI, CHUN-JEN FANG, CHIAO-HSIN LIN, CHIA-FEN TSAI,
YA-MIN KAO, DER-YUAN WANG AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Triethyl citrate is a legal food additive. It is added to food in capsule or tablet form as an agent for quality improvement, distillery and food processing. An analytical method for the determination of triethyl citrate in food in capsule or tablet form by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) was developed. The recovery tests were carried by spiking standards into blank samples. The results showed great linearity of calibration. The recoveries of triethyl citrate were between 112.4 and 103.6% with coefficients of variation (CV) between 3.47 and 4.29% at 0.25 and 1.25 mg/kg, respectively. The quantification limit of triethyl citrate was 0.25 mg/kg. This method was employed in testing 11 commercial products. One sample was found not in compliance of labeling inspection with regulations due to the added spice.

Key words: triethyl citrate, capsules, tablets, GC/MS/MS