

木薯製品中總氰酸之檢驗方法(草案)

Method of Test for Total Hydrocyanic Acid in Cassava Products

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於木薯粉及即食木薯片中總氰酸(total hydrocyanic acid)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經酵素水解及蒸餾後，以高效離子層析儀(high performance ion chromatograph, HPIC)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效離子層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：脈衝式電化學檢出器(pulsed electrochemical detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：IonPac[®] AS7，內徑4 mm × 25 cm，或同級品。
 - 2.1.1.3. 保護管：IonPac[®] AG7，內徑4 mm × 5 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 攪拌均質機(Blender)。
 - 2.1.3. 酸鹼度測定儀(pH meter)。
 - 2.1.4. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.5. 水浴(Water bath)：具溫度控制，可振搖。
 - 2.1.6. 蒸餾裝置(Distillation apparatus)。
 - 2.2. 試藥：氫氧化鈉及檸檬酸(C₆H₈O₇·H₂O)均採用試藥級；醋酸鈉為試藥特級；乙二胺(ethylenediamine)為合成級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；亞麻苦苷酶(linamarase, 0.21 U/mg)；氰離子對照用標準品(1000 µg/mL)。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 蒸餾瓶：500 mL。
 - 2.3.2. 容量瓶：10 mL、25 mL及100 mL。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.45 µm，Nylon材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 0.1 M檸檬酸溶液：

稱取檸檬酸2.19 g，以去離子水溶解使成100 mL。
 - 2.4.2. 0.5 N氫氧化鈉溶液：

稱取氫氧化鈉2 g，以去離子水溶解使成100 mL。
 - 2.4.3. 檸檬酸緩衝溶液：

稱取檸檬酸12.81 g及氫氧化鈉6.44 g，以去離子水溶解使成1000 mL，以0.1 M檸檬酸溶液或0.5 N氫氧化鈉溶液調整pH值至5.9。

2.4.4. 0.1 N 氫氧化鈉溶液：

稱取氫氧化鈉 0.4 g，以去離子水溶解使成 100 mL。

2.4.5. 0.625 N 氫氧化鈉溶液

稱取氫氧化鈉 25 g，以去離子水溶解使成 1000 mL。

2.4.6. 亞麻苦苷酶溶液：

稱取適量亞麻苦苷酶，以檸檬酸緩衝溶液稀釋至 4 U/mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

稱取醋酸鈉 41 g 及氫氧化鈉 4 g，以去離子水 500 mL 溶解，加入乙二胺 5 mL，混合均勻，加去離子水使成 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

精確量取氰離子對照用標準品 1 mL，以 0.1 N 氫氧化鈉溶液定容至 100 mL，作為標準原液。臨用時取適量標準原液，以 0.1 N 氫氧化鈉溶液稀釋至 0.025~1 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體均質混勻後，取約 2.5 g，精確稱定，置於蒸餾瓶中，加入檸檬酸緩衝溶液 50 mL 及亞麻苦苷酶溶液 1 mL，以軟塞塞緊蒸餾瓶，旋渦混合，於 38°C 水浴以 150 rpm 振搖 4 小時。接續進行水蒸氣蒸餾^(註)，其冷凝管末端須浸入已盛有 0.625 N 氫氧化鈉溶液 10 mL 之 100 mL 容量瓶液面下，以每分鐘約 20 mL 之速度收集蒸餾液約達 80 mL，停止蒸餾，以去離子水定容，經濾膜過濾後，供作檢液。

註：蒸餾速率可依所使用之儀器，設定適合之速率條件，惟須經方法確效。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 25 µL，分別注入高效離子層析儀中，依下列條件進行分析。就檢液及標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中總氰酸之含量 (mg/kg)：

$$\text{檢體中總氰酸之含量(mg/kg)} = \frac{C \times V \times 1.0387}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中氰離子之濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

1.0387：氰離子與氰酸之轉換係數

高效離子層析測定條件^(註)：

檢出器：脈衝式電化學檢出器。

層析管：IonPac[®] AS7，內徑4 mm × 25 cm。

保護管：IonPac[®] AG7，內徑4 mm × 5 cm。

層析管溫度：30°C。

注入量：25 μL。

移動相溶液：依2.5.節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

註：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器設定適合之測定條件。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限為1 mg/kg。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. 厚生労働省。2002年。シアン化合物が検出されたタピオカでん粉の取扱いについて。平成14年11月21日食基発第1121001号、食監発第1121001号。
2. Cho, H. J., Do, B. K., Shim, S. M., Kwon, H., Lee, D. H., Nah, A. H., Choi, Y. J. and Lee, S. Y. 2013. Determination of cyanogenic compounds in edible plants by ion chromatography. Toxicol. Res. 29: 143-147.