

原料「甲基硫醯基甲烷」中二甲基亞砜之檢驗方法

蔡沁玗 吳白玟 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

衛生福利部108年10月18日公告修正，食品原料「甲基硫醯基甲烷(methylsulfonyl methane, MSM)」如以二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)與過氧化氫(hydrogen peroxide)合成，成品(係指甲基硫醯基甲烷原料)之二甲基亞砜殘留量需低於0.05%。本研究利用氣相層析儀搭配火焰離子檢出器(GC-FID)分析膠囊錠狀食品中DMSO殘留量，層析管柱使用DB-23毛細管(內膜厚度0.25 μm，內徑0.25 mm × 30 m)，移動相為氮氣，流速1 mL/min，注入器溫度250°C，檢出器溫度300°C，分流比5：1。以二乙二醇一甲基醚(diethylene glycol methyl ether, DGME)作為內部標準品，前處理以丙酮為萃取溶劑，於室溫超音波振盪20分鐘。確效結果顯示，於空白基質中分別添加0.05及0.1% DMSO之平均回收率為94.8及96.9%，變異係數為0.92及0.95%，符合食品化學確效規範；本檢驗方法之定量極限為0.01%。以所建立之方法應用於14件市售膠囊與錠狀食品中DMSO含量檢測，結果均為未檢出。

關鍵詞：二甲基亞砜、甲基硫醯基甲烷、氣相層析儀、火焰離子檢出器

前言

二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)為無色透明液體，帶有一個親水的砜基及兩個疏水的甲基之兩性有機分子，具有高極性、高吸濕性、高沸點、可燃性及良好的熱穩定性等性質。DMSO為非質子性溶劑，可與水及許多有機溶劑互溶，且對有機物及無機物均具有強大的溶解性，包括碳水化合物、聚合物、肽、無機鹽及氣體⁽¹⁻³⁾。在工業上有許多應用，例如：(1)樹脂、殺真菌劑、染劑及顏料之溶劑，(2)化學合成之溶劑，(3)萃取之溶劑，(4)作為加速化學反應之中間介質⁽⁴⁾。

二甲基亞砜大量食入可能造成噁心、嘔吐、腹瀉、腹痛、昏睡及嗜睡；經動物實驗

大鼠餵食之致死劑量為21400 mg/kg；對人體可能誘導組織胺釋放，造成皮膚潮紅、呼吸困難、腹部絞痛及心血管問題^(4,5)。

自然界中的甲基硫醯基甲烷(methylsulfonyl methane, MSM)是地球硫循環的產物之一，化學合成可藉由二甲基硫、二甲基亞砜透過與過氧化氫(H₂O₂)氧化製備，並通過結晶或蒸餾來純化，因此若未純化完全則可能會有二甲基亞砜之殘留⁽⁶⁾。

衛生福利部於108年10月18日公告修正「食品原料甲基硫醯基甲烷(methylsulfonyl methane, MSM)之使用限制及標示規定」，針對原料「甲基硫醯基甲烷」之每日食用限量為6公克，且單一次劑量不得超過2公克，另使用原料「甲基硫醯基甲烷」為原料之食品，應

標示「避免睡前服用、孕婦及哺乳期婦女使用前應先諮詢醫師」等警語字樣，該原料如以二甲基亞碸與過氧化氫合成，成品(係指甲基硫醯基甲烷原料)之二甲基亞碸殘留量需低於0.05%⁽⁷⁾。

有關二甲基亞碸之相關分析方法，彙整如表一^(8,9)，Tian與Stolarczyk等人應用氣相層析儀搭配火焰離子檢出器分析藥物中二甲基亞碸殘留。本研究以膠囊錠狀食品基質建立原料「甲基硫醯基甲烷」中二甲基亞碸之分析方法。

材料與方法

一、檢體來源

膠囊產品3件及錠狀產品11件，共14件樣品，其中11件於107年6月購自網路商城，另3件於106年10月購自網路商城，並儲放於室溫備用。自行配製確效試驗之空白樣品(硬脂酸

鎂)。

二、試藥、標準品及溶劑

丙酮購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)。對照用標準品二甲基亞碸，純度99.9%及內部標準品二乙二醇一甲基醚(diethylene glycol methyl ether, DGME)，純度99%，皆購自Sigma (St. Louis, MO, USA)。

三、儀器及設備

- (一)旋渦混合器(Vortex Genie-2, Scientific Industries, USA)
- (二)超音波振盪器(Delta Sonicator DC300H，力明儀器有限公司，台灣)
- (三)離心機(Allegra™ 25R Centrifuge，貝克曼庫爾特有限公司，台灣)
- (四)氣相層析儀(Shimadzu GC-2010 FID，台灣島津科學儀器股份有限公司，台灣)

四、標準溶液之配製

表一、二甲基亞碸檢驗方法之文獻彙整表

作者	2014年Tian等人 ⁽⁸⁾	2014年Stolarczyk等人 ⁽⁹⁾
國家	美國	波蘭
適用範圍	藥物	藥物
儀器	GC-FID	GC-FID
管柱	Agilent DB-624毛細管柱(內膜厚度3.0 μm，內徑0.53 mm × 30 m)	Agilent DB-WAX毛細管柱(內膜厚度0.5 μm，內徑0.32 mm × 60 m)
管柱極性	中極性	高極性
移動相	氮氣	氮氣
分析條件	層析管溫度：70°C (8 min) → (50°C/min) → 120°C (5 min) → (50°C/min) → 240°C (5 min) 檢出器溫度：250°C 注入器溫度：250°C 移動相流速：3.5 mL/min 分流比：5：1或10：1	層析管溫度：60°C → (5°C/min) → 185°C → (30°C/min) → 240°C (3 min) 檢出器溫度：260°C 注入器溫度：160°C 移動相流速：3.5 mL/min 分流比：3：1
線性範圍	75-250 μg/mL	50-600 μg/mL
取樣	0.15-0.5 g，定容至10 mL	0.1 g，定容至1 mL
萃取溶劑	甲醇、丙酮	乙腈
萃取條件	無(直接稀釋)	無(直接稀釋)

- (一)對照用標準品：取二甲基亞碸約100 mg，精確稱定，以丙酮溶解並定容至50 mL，作為標準原液，冷藏儲存。
- (二)內部標準品：取二乙二醇一甲基醚約100 mg，精確稱定，以丙酮溶解並定容至50 mL，作為內部標準原液，冷藏儲存。
- (三)標準曲線配製：臨用時取適量標準原液與內部標準溶液混合，以丙酮稀釋至1 - 30 $\mu\text{g/mL}$ (含內部標準品濃度10 $\mu\text{g/mL}$)，供作標準溶液。

五、檢液之調製

將檢體混勻後，取約0.5 g，精確稱定，加入內部標準溶液100 μL ，再加入丙酮15 mL，旋渦混合，超音波振盪20分鐘，再以丙酮定容至20 mL，以 $3000 \times g$ 離心10 min，經濾膜過濾，供作檢液。

六、氣相層析儀分析條件

- (一)檢出器：火焰離子檢出器
- (二)層析管：DB-23毛細管柱，內膜厚度0.25 μm ，內徑0.25 mm \times 30 m
- (三)層析管溫度：初溫：100°C，5 min
溫度上升速率：8°C/min
終溫：240°C，30 min
- (四)注入器溫度：300°C
- (五)檢出器溫度：250°C
- (六)移動相氣體及流速：氮氣，1.0 mL/min
- (七)分流比：5 : 1

七、標準曲線之製作

標準溶液依上述條件進行氣相層析儀分析，就各二甲基亞碸與內部標準品波峰面積比，與對應之各二甲基亞碸濃度，分別製作1 - 30 $\mu\text{g/mL}$ 標準曲線。

八、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

入氣相層析儀中，依上述條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及波峰面積比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中二甲基亞碸之含量(%)：

$$\text{檢體中二甲基亞碸之含量}(\%) = \frac{C \times V}{M} \times 10^{-4}$$

C：由標準曲線求得檢液中二甲基亞碸之濃度($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

九、方法確效

依據食藥署公布之「食品化學檢驗方法之確效規範⁽¹⁰⁾」進行確效試驗，評估本研究檢驗方法之準確度(accuracy)、精密度(precision)及定量極限(limit of quantitation, LOQ)。

(一)標準曲線

標準曲線部分包括6種不同濃度，線性迴歸方程式之相關係數不應低於0.99，檢液中待測物濃度應在標準曲線之線性範圍內。

(二)準確度-添加回收試驗

1. 執行方式

分別將適當濃度之二甲基亞碸標準溶液添加至空白樣品中，低、高濃度分別為0.05及0.1%，各濃度皆進行5重複試驗，依前述流程製成檢液，並計算其回收率以評估是否符合規範要求。

表二、準確度之回收率規範

濃度範圍(ppm)	回收率(%)
≥ 100	85 - 100
> 10 - 100	80 - 115
> 1 - 10	75 - 120
> 0.1 - 1	70 - 120
> 0.01 - 0.1	70 - 120
> 0.001 - 0.01	60 - 125
≤ 0.001	50 - 125

2. 回收率計算方式

$$\text{回收率}(\%) = \frac{\text{測試值}}{\text{添加值}} \times 100$$

(三) 精密度-重複性及中間精密度試驗

1. 執行方式

於不同日期分別將適當濃度之二甲基亞礦標準溶液添加至空白樣品中，低、高濃度分別為0.05及0.1%，各濃度皆進行5重複試驗，依前述流程製成檢液，並計算其回收率以評估是否符合規範要求。

表三、重複性及中間精密度之變異係數規範

濃度範圍(ppm)	變異係數(CV, %)	
	重複性	中間精密度
≥ 1	10	14
> 1 - 10	15	18
> 0.1 - 1	20	22
> 0.01 - 0.1	30	32
> 0.001 - 0.01	35	36

2. 變異係數計算方式

$$\text{變異係數(CV, \%)} = \frac{\text{標準偏差 (STDEV)}}{\text{添加值}} \times 100$$

(四) 定量極限之評估

1. 執行方式

分別將適當濃度之二甲基亞礦標準溶液添加至空白樣品中，添加濃度為0.01%，依檢液之調製流程操作製成檢液，並計算其回收率，以評估其回收率及重複性是否符合規範要求。

2. 評估定量極限可採以下方法

評估含有已知量待測物之低濃度樣品，經前處理後層析圖譜中待測物波峰之訊號/雜訊比 ≥ 10 ，以及評估含有已知量待測物之低濃度樣品其回收率及重複性符合要求。

十、統計分析

平均值(mean)、標準偏差(STDEV)及CV%等數值以Microsoft Excel 2010軟體進行計算。

結果與討論

一、層析圖譜

於甲基硫醯基甲烷檢體中添加二甲基亞礦與內標經前處理流程後之檢液氣相層析圖譜如圖一，結果顯示，於材料與方法第六節之氣相層析儀分析條件下，可將基質與二甲基亞礦、內標及甲基硫醯基甲烷良好分離，且樣品溶液圖譜雜訊少。

二、確效試驗

(一) 標準曲線

二甲基亞礦之線性範圍為1 - 30 $\mu\text{g/mL}$ ，以二乙二醇-甲基醚作為內標校正， R^2 均可達0.995以上，顯示線性良好，如圖二。

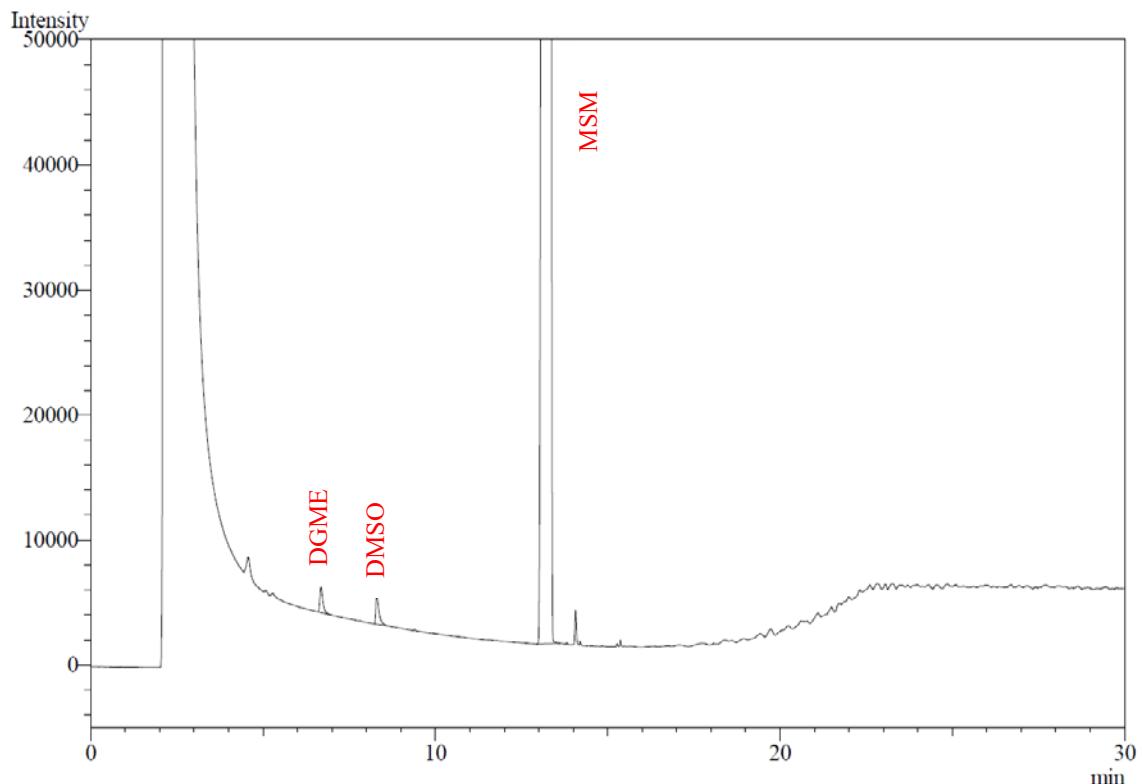
(二) 準確度-添加回收試驗

添加二甲基亞礦標準溶液於空白基質中，依前述準確度-添加回收試驗實驗步驟進行分析，計算回收率以評估方法之準確度。結果如表四，於空白基質中添加低、高濃度分別為0.05及0.1%之二甲基亞礦，同日間平均回收率分別為94.8及96.9%，異日間平均回收率分別為94.1及97.0%，顯示方法準確度符合確效規範。

(三) 精密度-重複性及中間精密度試驗

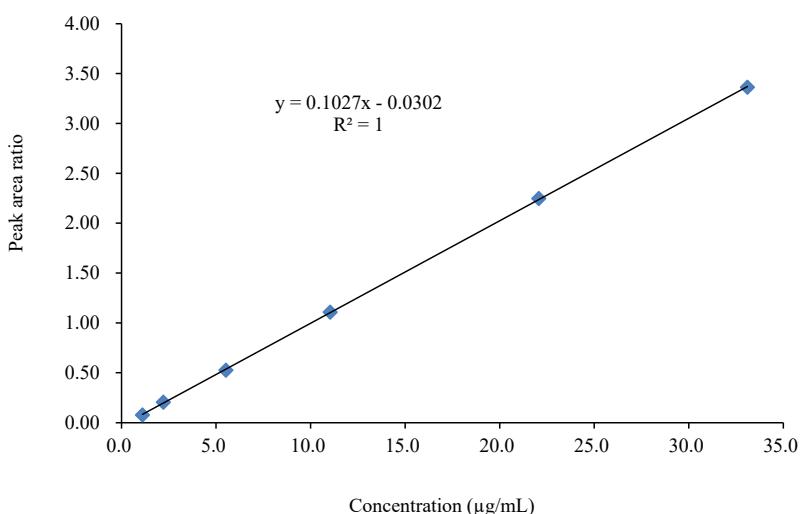
添加二甲基亞礦標準溶液於空白檢體中，依前述準確度-添加回收試驗實驗步驟進行分析並計算變異係數以評估方法之精密度。結果如表四，同日間於空白基質中添加0.05及0.1%二甲基亞礦之同日間變異係數分別為0.92及0.95%；異日間之變異係數分別為1.55及0.83%，顯示方法之精密度符合確效規範。

(四) 定量極限之評估



圖一、檢液之氣相層析圖譜

註：甲基硫醯基甲烷檢體中添加二甲基亞碸標準品(DMSO)及二乙二醇一甲基醚(DGME)內部標準品經前處理所得之檢液
(檢液中含10 μg/mL DMSO及10 μg/mL DGME)



圖二、二甲基亞碸之標準曲線

表四、二甲基亞碸之方法確效數據

添加濃度 (mg/g)	同日間(n=5)		異日間(n=10)	
	平均回收率(%)	變異係數(%)	平均回收率(%)	變異係數(%)
0.01	90.6	3.25	89.9	3.48
0.05	94.8	0.92	94.1	1.55
0.1	96.9	0.95	97.0	0.83

表五、市售產品中二甲基亞碸之含量檢測結果

編號	型態	MSM (mg/g)	DMSO (%)
S1	錠狀	255.2	未檢出
S2	錠狀	241.2	未檢出
S3	膠囊	151.6	未檢出
S4	錠狀	315.9	未檢出
S5	錠狀	158.1	未檢出
S6	錠狀	309.6	未檢出
S7	錠狀	250.7	未檢出
S8	膠囊	935.9	未檢出
S9	膠囊	950.4	未檢出
S10	錠狀	180.2	未檢出
S10	錠狀	180.2	未檢出
S11	錠狀	105.0	未檢出
S12	錠狀	40.2	未檢出
S13	錠狀	313.1	未檢出
S14	錠狀	251.2	未檢出

添加二甲基亞碸0.01%於空白樣品中，依前述定量極限之評估實驗步驟進行分析並計算回收率與變異係數，以評估方法之定量極限。結果如表四，同日間二甲基亞碸之平均回收率為90.6%，變異係數為3.25%，S/N比為11.7；異日間其變異係數為3.48%，S/N比為10.7，皆符合確效規範之要求。

三、市售產品調查

本研究市售產品之選擇，主要係以產品名稱含甲基硫醯基甲烷或原料成分標示中含甲基

硫醯基甲烷之膠囊與錠狀產品為主，共計14件樣品，包括3件膠囊產品及11件錠狀產品。檢測結果如表五，14件市售含甲基硫醯基甲烷之膠囊錠狀食品中二甲基亞碸含量檢測結果均為未檢出。依衛生福利部108.10.18公告修正使用原料甲基硫醯基甲烷之二甲基亞碸殘留量需低於0.05% (即每克原料甲基硫醯基甲烷中二甲基亞碸含量需小於0.5毫克)，本研究所建立之分析方法定量極限為0.01%。當膠囊錠狀食品為100%甲基硫醯基甲烷時，每克膠囊錠狀食品中二甲基亞碸含量需小於0.5毫克；當膠囊錠狀食品含20%甲基硫醯基甲烷時，每克膠囊錠狀食品(含200 mg之甲基硫醯基甲烷)中二甲基亞碸含量需小於0.1毫克，即本方法定量極限。故對於其中6件含甲基硫醯基甲烷少於200 mg/g者，無法自產品端得知是否符合該規範，建議從原料「甲基硫醯基甲烷」檢測二甲基亞碸含量。

結 論

本研究以膠囊錠狀食品基質建立原料「甲基硫醯基甲烷」中二甲基亞碸之分析方法，確效結果符合本署「食品化學檢驗方法之確效規範」。其中2件市售膠囊錠狀檢體之甲基硫醯基甲烷含量接近100%，故可適用於本檢驗方法。惟本檢驗方法若用於市售膠囊錠狀食品中二甲基亞碸之檢驗，需注意產品之甲基硫醯基甲烷含量若少於200 mg/g，無法自產品端得知是否符合法規規範，且產品一旦檢出二甲基亞碸，亦無法推測是來自於原料甲基硫醯基甲烷。

或是賦形劑，故須從源頭進行稽查。

參考文獻

1. Tunçer, S., Gurbanov, R., Sheraj, I., Solel, E. and et al. 2018. Low dose dimethyl sulfoxide driven gross molecular changes have the potential to interfere with various cellular processes. *Sci. Rep.* 8(1): 14828.
2. Pope, D. C. and Oliver, W. T. 1996. Dimethyl sulfoxide (DMSO). *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 30(1): 3-8.
3. Brayton, C. F. 1986. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *Cornell Vet.* 76: 61-90.
4. Kligman, A. M. 1965. Topical pharmacology and toxicology of dimethyl sulfoxide-Part 1. *JAMA* 193: 796-804.
5. Madsen, B. K., Hilscher, M., Zetner, D. and Rosenberg, J. 2018. Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: a systematic review. *F1000Research.* 7: 1746.
6. Perry, R. H. and Chilton, C. H. 1973. Chemical Engineers' Handbook. McGraw-Hill. New York, USA.
7. 衛生福利部。2019。食品原料甲基硫醯基甲烷(Methylsulfonyl Methane, MSM)之使用限制及標示規定。108.10.18衛授食字第1081302650號公告修正。
8. Tian, J., Chen, G. and He, Z. 2014. Overcoming matrix effects : GC method development for the determination of triethylamine and dimethyl sulfoxide in a drug substance. *J. Chromatogr. Sci.* 52: 36-41.
9. Stolarczyk, E. U., Groman, A. and Łuniewski, W. 2014. Development and validation of the GC method for the quantitative determination of semi-volatile solvents in the pharmaceutical substance bosentan. *Acta Pol. Pharm.* 71(6): 1107-1113.
10. 食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範(102.09.09第二次修正)。
[<https://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mID=133&id=%2018202>]。

Method of Test for Dimethyl Sulfoxide in Methylsulfonylmethane as a Food Ingredient

CHING-HSUAN TSAI, PAI-WEN WU, NU-CHING LIN, YA-MIN KAO,
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

The residue of dimethyl sulfoxide (DMSO) in methylsulfonylmethane (MSM) as a food ingredient should be lower than 0.05% according to the MOHW regulation. This study aimed on the rapid determination of DMSO residue in MSM by gas chromatograph coupled with a flame ionization detector (GC-FID). Chromatography was performed on a capillary column DB-23 (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness). Helium carrier gas flow rate was set at 1 mL min⁻¹. Injector temperature was set at 250°C with a split injection of 5:1. Detector temperature was set at 300°C. DMSO in samples was extracted by acetone for 20 minutes in an ultrasonic bath. Diethylene glycol methyl ether (DGME) was selected as an internal standard for the accurate quantification of DMSO in samples. Accuracy was conducted by spiking 0.05 and 0.1% DMSO into the blank samples, and the obtained average recoveries were 94.8 and 96.9%, and the coefficients of variation were 0.92 and 0.95%, respectively. The limit of quantification was estimated to be 0.01%. The surveillance results of 14 commercial food samples purchased from demotic market showed that DMSO was not detected in all of them.

Key words: dimethyl sulfoxide, DMSO, methylsulfonylmethane, MSM, gas chromatograph, flame ionization detector