

食品中丙烯醯胺之檢驗方法

Method of Test for Acrylamide in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食品中丙烯醯胺(acrylamide)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化處理後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化正離子(positive ion electrospray ionization, ESI⁺)。
 - 2.1.1.2. 層析管：HSS T3，1.8 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.3. 攪拌均質器(Blender)。
 - 2.1.4. 離心機(Centrifuge)：轉速可達3500 rpm者，並具有5 $^{\circ}\text{C}$ 以下溫控功能。
 - 2.1.5. 往復式振盪器(Reciprocal shaker bath)。
 - 2.1.6. 粉碎機(Grinder)。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；甲酸採用試藥特級；丙烯醯胺對照用標準品；碳13同位素丙烯醯胺(1,2,3-¹³C₃ acrylamide, 1 mg/mL)內部標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及100 mL。
 - 2.3.2. 分液漏斗：100 mL。
 - 2.3.3. 濃縮瓶：150 mL。
 - 2.3.4. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.5. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Oasis[®] HLB，200 mg，6 mL，或同級品。
 - 2.3.6. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Oasis[®] MCX，60 mg，3 mL，或同級品。
 - 2.3.7. 固相真空萃取裝置(Solid phase extraction vacuum manifolds)。
 - 2.3.8. 濾膜：孔徑0.45 μm ，Nylon 材質。

2.4. 含0.1%甲酸之甲醇溶液之調製：

取甲酸1 mL，以甲醇定容至1 L。

2.5. 移動相溶液之調製：

取去離子水與含0.1%甲酸之甲醇溶液，以9：1 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 內部標準溶液之配製：

精確量取碳13同位素丙烯醯胺內部標準品1 mL，以甲醇定容至100 mL，作為內部標準原液。臨用時再以去離子水稀釋至1 µg/mL，供作內部標準溶液。

2.7. 標準溶液之配製：

取丙烯醯胺對照用標準品約10 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，作為標準原液，於4°C貯存備用。臨用時取適量標準原液置於10 mL容量瓶中，加入內部標準溶液1 mL，以去離子水定容，使濃度為1~200 ng/mL (含內部標準品濃度為100 ng/mL)，供作標準溶液。

2.8. 檢液之調製：

2.8.1. 萃取：

將檢體均質後，取約1 g，精確稱定，置於離心管中，加內部標準溶液1 mL，再加去離子水9 mL，振盪20分鐘，於5°C以3500 rpm離心20分鐘，取上清液，供淨化用。

2.8.2. 淨化：

串聯Oasis[®] HLB及Oasis[®] MCX固相萃取匣，分別以甲醇5 mL及3 mL潤洗，再分別以去離子水5 mL及3 mL清洗。取2.8.1節淨化用溶液1.5 mL，注入串聯之固相萃取匣，棄流出液，加入去離子水0.5 mL，棄流出液。再以去離子水3 mL沖提，收集沖提液，於35°C以氮氣濃縮至1.5 mL，供作檢液。

2.9. 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液各10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就丙烯醯胺與內部標準品波峰面積比，與對應之丙烯醯胺濃度，製作標準曲線。

液相層析串聯質譜分析條件^(註)：

層析管：HSS T3，1.8 µm，內徑2.1 mm × 10 cm。

移動相溶液：依2.5節調製之溶液。

移動相流速：0.2 mL/min。

注入量：10 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.2 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150℃。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：350℃。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如下表：

分析物	離子對	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
丙烯醯胺	72 > 55*	19	19
	72 > 54	19	20
碳13同位素 丙烯醯胺	75 > 58	20	9

*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。

2.10. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依 2.9 節進行液相層析串聯質譜分析，就檢液與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比^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中丙烯醯胺之含量(ppb)。

$$\text{檢體中丙烯醯胺之含量(ppb)} = \frac{C \times 10}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中丙烯醯胺之濃度(ng/mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由兩組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	± 20
> 20 ~ 50	± 25

$> 10 \sim 20$	± 30
≤ 10	± 50

附註：

1. 本檢驗方法之檢出限量為 10 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。