

食品中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐總量之檢驗方法

Method of Test for Total Amounts of Maleic Acid and Maleic Anhydride in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於順丁烯二酸酐化製澱粉及其製品中順丁烯二酸(maleic acid)與順丁烯二酸酐(maleic anhydride)總量之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取、鹼水解後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 高效液相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
 - 2.1.1.2. 層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 25 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.3. 酸鹼度測定儀(pH meter)。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；磷酸(85%)、鹽酸及氫氧化鉀均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 M Ω ·cm 以上)；順丁烯二酸對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：50 mL 及 100 mL。
 - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，PVDF 材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 50%甲醇溶液：
取甲醇 250 mL，加去離子水使成 500 mL。
 - 2.4.2. 5N 鹽酸溶液：
取去離子水 50 mL，徐徐加入鹽酸 42 mL，混勻冷卻後，再加去離子水使成 100 mL。
 - 2.4.3. 0.5N 氫氧化鉀溶液：
稱取氫氧化鉀 14 g，以去離子水溶解使成 500 mL。
 - 2.4.4. 0.1%磷酸溶液：
取磷酸 1.2 mL，加去離子水使成 1000 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

取 0.1%磷酸溶液與甲醇以 98：2 (v/v)之比例混勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取順丁烯二酸對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時精確量取適量標準原液，以去離子水稀釋至 0.02～1.0 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體均質或混勻後，取約 1 g，精確稱定，置於離心管中，加 50%甲醇溶液 25 mL，振盪 30 分鐘後，加 0.5N 氫氧化鉀溶液 20 mL，混勻，靜置 2 小時。加 5N 鹽酸溶液約 3 mL，使呈酸性，以去離子水定容至 50 mL。靜置後，取上清液 100 µL (a)，加去離子水使成 1000 µL (b)，混勻後，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量(ppm)^(註)：

$$\text{檢體中順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量(ppm)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C：由標準曲線求得順丁烯二酸之濃度(µg/mL)

V：檢體定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

註：順丁烯二酸與順丁烯二酸酐之總量，以順丁烯二酸計。

高效液相層析測定條件^(註)：

光二極體陣列檢出器：波長 214 nm。

層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 µm，內徑 4.6 mm × 25 cm。

移動相溶液：依 2.5.節調製之溶液。

移動相流速：1 mL/min。

註：1. 所採用之層析管應有效將順丁烯二酸與反丁烯二酸(fumaric acid)、醋酸、蘋果酸(malic acid)及琥珀酸(succinic acid)等分離。

2. 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(limit of quantification, LOQ)為 10 ppm。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

3. 以液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)進行確認時，移動相溶液改採 0.1%甲酸溶液：甲醇(98:2, v/v)，LC/MS/MS 之多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式參考參數如下表：

分析物	離子化 模式	離子對		去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
		前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)		
順丁烯二酸	ESI ⁻	115	> 71	-15	-11

4. 食品中可能存在微量順丁烯二酸，當檢體驗出微量順丁烯二酸時，尚需就其原料綜合研判，以釐清是否違法添加順丁烯二酸酐化製澱粉。