

奶粉中雙氰胺之檢驗方法

Method of Test for Dicyandiamide in Milk

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於奶粉中雙氰胺(dicyandiamide)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，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：ACQUITY UPLC[®] BEH HILIC，1.7 μm，內徑 2.1 mm × 10 cm，或同級品。
XBridge HILIC，3.5 μm，內徑 2.1 mm × 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)。
 - 2.1.3. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.4. 高速組織研磨均質機 (SPEX SamplePrep 2010 GenoGrinder[®])：1000 rpm以上，或同級品。
 - 2.1.5. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲酸及乙腈均採用液相層析級；甲酸銨採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 MΩ·cm 以上)；雙氰胺對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。
 - 2.3.2. 容量瓶：100 mL。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.2 μm，PTFE材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 2%甲酸溶液：
取甲酸20 mL，加去離子水使成1000 mL。
 - 2.4.2. 0.1%甲酸溶液：
取2%甲酸溶液50 mL，加去離子水使成1000 mL。
 - 2.5. 移動相溶液之配製：
 - 2.5.1. 移動相溶液A [乙腈：去離子水(95:5, v/v)，含0.1%甲酸及10

mM 甲酸銨]：

取甲酸 1 mL 及甲酸銨 0.63 g，以去離子水溶解使成 50 mL，加乙腈 950 mL 混合後，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。

2.5.2. 移動相溶液 B [乙腈：去離子水(20:80, v/v)，含 0.1% 甲酸及 10 mM 甲酸銨]：

取甲酸 1 mL 及甲酸銨 0.63 g，以去離子水溶解使成 800 mL，加乙腈 200 mL 混合後，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。

2.6. 標準溶液之調製：

取雙氰胺對照用標準品約 100 mg，精確稱定，以 0.1% 甲酸溶液溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，冷藏貯存。臨用時取適量標準原液，以 0.1% 甲酸溶液稀釋至 10 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製^(註)：

將檢體混勻後，取約 1 g，精確稱定，置於離心管中，加入 2% 甲酸溶液 10 mL，以超音波振盪 10 分鐘或高速組織研磨振盪均質機於 1000 rpm 振盪 10 分鐘後，以 $3860 \times g$ 離心 10 分鐘。取上清液 50 µL，加入乙腈 950 µL，旋渦混合後，以濾膜過濾，供作檢液。

註：萃取溶液體積及離心後上清液之稀釋倍數，可依儀器感度適度調整。

2.8. 檢量線之製作：

精確量取標準溶液 6~50 µL 添加於空白檢體中，依 2.7. 節調製檢液，並依下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就雙氰胺定量離子之波峰面積，與對應之標準品添加量，製作 0.06~0.5 µg 之檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註)：

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 2.0	100 → 100	0 → 0
2.0 → 2.1	100 → 40	0 → 60
2.1 → 4.5	40 → 40	60 → 60
4.5 → 4.6	40 → 100	60 → 0

4.6 → 10.0

100 → 100

0 → 0

移動相流速：0.2 mL/min。

注入量：5 µL。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：5.5 kV。

氣簾氣體(Curtain gas)：30 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：medium。

霧化氣體(Gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Gas 2)：50 psi。

加熱溫度(Temperature)：500°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)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)		
雙氰胺	ESI ⁺	85 > 68*	41	23
		85 > 43	41	19

*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。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各5 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.8.節條件進行分析。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鑑別之^(註)，並依下列計算式，求出檢體中雙氰胺之含量(ppm)：

$$\text{檢體中雙氰胺之含量(ppm)} = \frac{C}{M}$$

C：由檢量線求得檢體中雙氰胺之含量(µg)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積比而得(≤100%)，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	±20

公開日期：102 年 1 月 28 日

修正日期：102 年 5 月 16 日

TFDAQ0011.01

> 20～50	±25
> 10～20	±30
≤ 10	±50

附註：食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

MacMahon, S., Begley, T. H., Diachenko, G. W. and Stromgren, S. A. 2012. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of economically motivated adulteration in protein-containing foods. J. Chromatogr. A 1220: 101-107.