

食用油中游離棉籽酚之檢驗方法
Method of Test for Free Gossypol in Edible Oils

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用油中游離棉籽酚(free gossypol)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：電灑離子化負離子(negative ion electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑 2.1 mm \times 7.5 cm，或同級品。
 - 2.1.1.3. 振盪器(Shaker)。
 - 2.1.1.4. 離心機(Centrifuge)：可達 3500 \times g 以上。
 - 2.2. 試藥：異丙醇及乙腈採用液相層析級；冰醋酸、甲酸及無水乙醇均採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25 $^{\circ}\text{C}$ 可達 18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；棉籽酚對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL。
 - 2.3.2. 離心管：15 mL，PP 材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，PVDF 材質。
 - 2.4. 1%醋酸之乙醇溶液之調製：

取冰醋酸 10 mL，加無水乙醇使成 1000 mL。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：
 - 2.5.1. 移動相溶液 A：

取甲酸 1 mL，加去離子水使成 1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。
 - 2.5.2. 移動相溶液 B：

取異丙醇 300 mL、乙腈 700 mL 及甲酸 1 mL，混勻後經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 B。
 - 2.6. 標準溶液之配製：

取棉籽酚對照用標準品約 10 mg，精確稱定，以 1%醋酸之乙

公開日期：102 年 11 月 01 日

修正日期：102 年 11 月 08 日

醇溶液溶解並定容至 10 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 1%醋酸之乙醇溶液稀釋至 1、2.5、5、7.5 及 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

取檢體約 1 g，精確稱定，置於離心管中，加 1%醋酸之乙醇溶液 5 mL，振盪萃取 30 分鐘後，於 $3500 \times g$ 離心 5 分鐘。取上清液經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 檢量線之製作：

精確量取各標準溶液 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，就棉籽酚之波峰面積，與對應之添加量，製作 0.01~0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註)：

層析管：Poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑 2.1 mm \times 7.5 cm。

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 \rightarrow 0.5	50 \rightarrow 50	50 \rightarrow 50
0.5 \rightarrow 1.0	50 \rightarrow 0	50 \rightarrow 100
1.0 \rightarrow 9.0	0 \rightarrow 0	100 \rightarrow 100
9.0 \rightarrow 9.1	0 \rightarrow 50	100 \rightarrow 50
9.1 \rightarrow 13.0	50 \rightarrow 50	50 \rightarrow 50

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：5 μL 。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：-4.5 kV。

氣簾氣體(Curtain gas)：20 psi。

霧化氣體(Gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Gas 2)：50 psi。

加熱溫度(Temperature)：550 $^{\circ}\text{C}$ 。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring,

公開日期：102 年 11 月 01 日

修正日期：102 年 11 月 08 日

MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)與碰撞能量(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)		
棉籽酚	ESI ⁻	517	> 231*	-60	-50
		517	> 259	-60	-42

* 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：

精確量取檢液及檢量線溶液各 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，就檢液與檢量線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游離棉籽酚之含量(ppm)：

$$\text{檢體中游離棉籽酚之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中游離棉籽酚之濃度(μg/mL)

V：萃取檢體之 1%醋酸之乙醇溶液體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由 2 組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
> 20~50	±25
> 10~20	±30
≤ 10	±50

附註：1. 本檢驗方法之定量極限為 0.05 ppm。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。