

農產品中棉酚含量檢測方法之開發及應用

陳慧珊¹ 陳思縈¹ 徐慈鴻¹ 黃鎮華^{1*}

摘要

陳慧珊、陳思縈、徐慈鴻、黃鎮華。2016。農產品中棉酚含量檢測方法之開發及應用。臺灣農藥科學 1: 183-194。

為探討農產品中棉籽及菇類棉酚殘留的情形，及其受棉酚污染的情形，本研究建立了農產品中棉酚殘留檢測技術。樣品以溶劑抽出，分別利用分光光度計、高效液相層析儀及液相層析串聯質譜儀進行定量和定性分析。本方法一至五分別適用於棉籽、棉籽粕（方法一）、飼料（方法二）、菇類（方法三）、菇類太空包（方法四）及牛奶（方法五）等農產品中棉酚殘留檢測。各種農產品添加棉酚的回收率試驗結果顯示，回收率介於 67 ~ 100%、回收率的變異係數 < 20%，可以快速準確的進行殘留檢測之定性及定量，依據樣品種類及方法之不同差異，其方法定量極限於棉籽、棉籽殼及棉籽粕中為 100 mg/kg、飼料中為 5 mg/kg、菇類中為 0.05 mg/kg、太空包中為 0.02 mg/kg、牛奶中為 0.01 mg/L，均能執行歐盟飼料原料及動物配合飼料中棉酚殘留限量標準之要求。利用建立的方法，進行農產品中棉酚殘留的調查，結果顯示，在 63 件樣品中，有 23 件樣品檢測到棉酚殘留，除其中 4 件棉籽之棉酚含量為 6,347 ~ 7,325 mg/kg，其餘皆符合歐盟之規範。本方法之建立可提升農產品的檢驗技術品質，並監測其品質安全。

關鍵詞：棉酚、農產品、飼料、栽培介質、基質匹配。

接受日期：2016 年 9 月 8 日

* 通訊作者。Email: chhuang@tactri.gov.tw

¹ 臺中市 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

在飼料中蛋白資源緊缺的形勢下，畜牧產業在牲畜飼料中加入棉籽粕 (cottonseed meal)，然棉籽粕中含有游離棉酚 (free gossypol)，此游離棉酚對動物有一定的毒性，如抑制動物生長，損害雄性動物生殖系統發育等^(5, 19)；為控制動物對游離棉酚之攝入量，歐盟對於牛與羊飼料中的棉酚含量限制為：成年牛 (adult cattle) ≤ 500 mg/kg、山羊 (goats)、綿羊 (sheep) ≤ 300 mg/kg、犢牛 (calves) ≤ 100 mg/kg，其他不含棉籽粕的飼料需 ≤ 20 mg/kg；美國則是針對牛與羊飼料中的游離棉酚有更詳細的限制：0 ~ 3 周齡的牲畜飼料中的游離棉酚含量限制為 100 mg/kg、3 ~ 24 周齡為 200 mg/kg，大於 24 周齡時，母畜為 600 mg/kg，育種的公畜為 200 mg/kg^(6, 14, 15, 18)。依據中國現行的標準，棉籽粕原料中的棉酚含量不得超過 1,200 mg/kg，配合飼料使用：肉用仔雞與生長雞 (poultry) ≤ 100 mg/kg，產蛋雞 (laying hens) ≤ 20 mg/kg，生長豬 (pigs) ≤ 60 mg/kg，中國對雞與豬飼料中的棉酚含量規定與歐盟相同，但中國並沒有對牛與羊飼料中的游離棉酚允許量做出規定^(6, 14, 15, 18)。

有鑑於近期社會關注之棉酚 (gossypol) 殘留等議題，建立非例行監測藥劑檢驗技術，整合提升農產品安全檢驗技術能力，同時以開發之方法進行檢驗，主動瞭解實際殘留情形，為有效利用棉籽粕，並釐清棉酚之風險，避免媒體片面報導衝擊民眾對農產品安全信心，評估國內棉酚在農產品之殘留情形，農產品中棉酚含量檢測方法之開發刻不容緩，目前，檢測游離棉酚

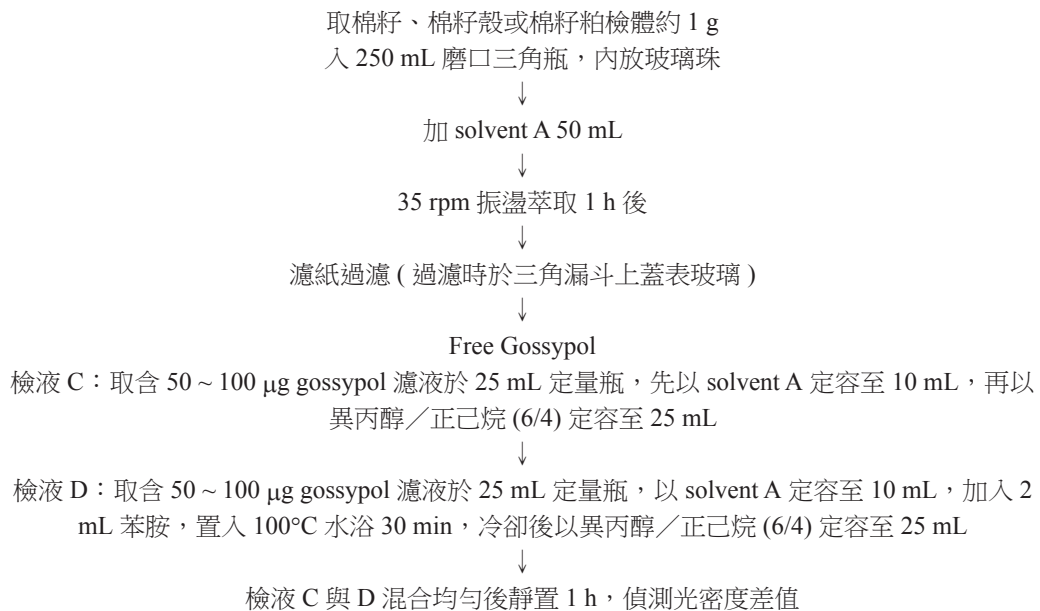
的方法有分光光度計法 (spectrophotometric determination)^(1, 17, 20)，包括苯胺法 (aniline method) 和間苯三酚法 (phloroglucinol method)，其中苯胺法為歐盟所採用的方法，適用於棉籽 (cottonseed)、棉籽粕、棉餅 (cottonseed cake) 及飼料 (feedstuffs) 等；酵素免疫分析法 (ELISA)⁽²¹⁾ 適用於棉籽粕；傅立葉轉換紅外光譜法 (FTIR)⁽¹⁶⁾、適用於棉籽油 (cottonseed oil)；高效液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC) 分析之方法^(2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13) 適用於棉籽、棉籽粕、棉根皮 (cotton root bark)、飼料及植物性食品 (vegetable foods) 等。其中 HPLC 法則為目前廣泛使用的方法，此方法具靈敏度及準確度高、簡便快速並可自動化檢測等優點；衛生福利部食品藥物管理署於 2013 年 11 月 8 日公布修正「食用油中游離棉籽酚之檢驗方法」以液相層析串聯質譜儀 (liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS) 分析之方法⁽⁷⁾，提升棉酚之靈敏度及準確度，使其檢驗能力更能符合 0.05 mg/kg 之定量極限需求。

本研究參考歐盟方法⁽¹⁷⁾ 即苯胺法，建立棉籽、棉籽殼及棉籽粕中游離棉酚之檢驗方法，方法流程見圖一；參考 K. Aoyama 方法⁽⁸⁾ 建立飼料中游離棉酚之檢驗，方法流程見圖二；參考 K. Aoyama 方法⁽⁸⁾ 及 GB/T 5009.148-2003 方法⁽²⁾ 建立菇類中游離棉酚之檢驗；參考 GB/T 5009.148-2003 方法⁽²⁾ 並做調整，以建立太空包中游離棉酚之檢驗；參考 GB/T 5009.148-2003 方法⁽²⁾ 建立牛奶中游離棉酚之檢驗。

方法一（圖一）棉籽、棉籽殼及棉籽粕中游離棉酚之檢驗方法，量取 500 mL 異丙醇／正己烷 (6/4)、2 mL 3-氨基-1-丙醇、8 mL 冰醋酸和 50 mL H₂O 混合後，以異丙醇／正己烷 (6/4) 定容至 1,000 mL (solvent A，其保存期限為 1 wk)，以醋酸棉酚 (gossypol acetate) 為對照用標準品，稱取 27.9 mg 醋酸棉酚於 250 mL 定量瓶，以上述 solvent A 溶解定量後，取 50 mL 於另一 250 mL 定量瓶以 solvent A 溶解定量，此標準劑濃度為 0.02 mg/mL，室溫靜置 1 h 方可使用，其避光保存期限為 24 h。檢量線之製作為分別量取標準劑 0.02 mg/mL 2、4、6、8 和 10 mL 於 25

mL 定量瓶，先以 solvent A 定容至 10 mL；空白溶液為取 10 mL solvent A 入 25 mL 定量瓶。以上 6 點檢量線共配製 2 重覆分為檢液 A 與 B，6 瓶檢液 A 分別再以異丙醇／正己烷 (6/4) 定容至 25 mL，檢液 B 則分別加入 2 mL 苯胺置入 100°C 水浴 30 min，冷卻後再以異丙醇／正己烷 (6/4) 定容至 25 mL，混合均勻後靜置 1 h 再偵測檢液 A 與 B 的光密度差。樣品依方法一調製檢液後，以分光光度計波長 440 nm 分析，吸光值靈敏度達 0.001，樣品槽光徑為 1 cm，偵測檢液 C 與 D 的光密度。

方法二（圖二）飼料中游離棉酚之檢驗



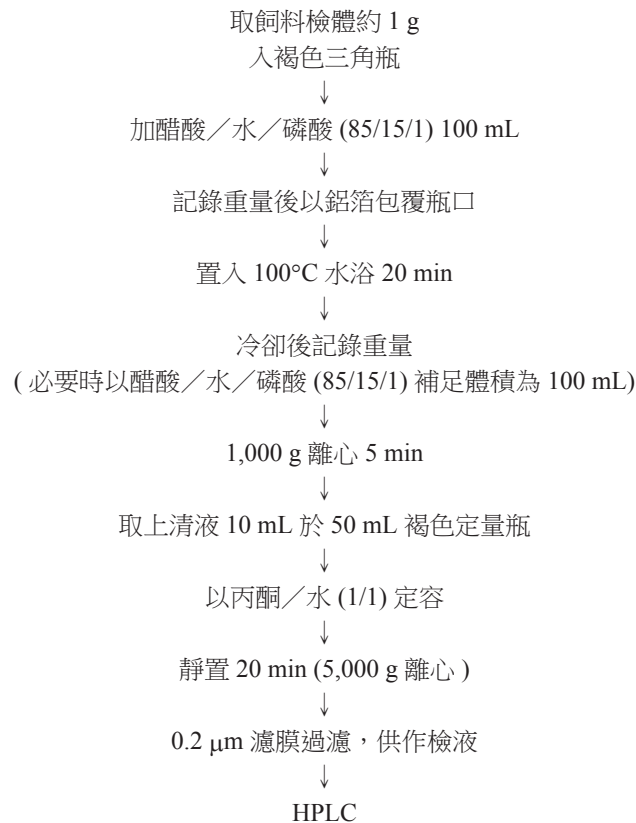
圖一、(方法一) 棉籽、棉籽殼及棉籽粕中游離棉酚之檢驗方法。

Fig. 1. (Method I) Flow chart of gossypol residue analysis method in cottonseed, cottonseed hulls, and cottonseed meal.

方法，標準溶液之配製為取棉酚對照用標準品約 0.1 g，精確稱定，以氰甲烷 / 0.2% 磷酸 (85/15) 溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，避光於 -18°C 貯存備用。臨用時精確量取適量標準原液，以丙酮 / 水 (1/1) 稀釋至 0.05 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。樣品依方法二調製檢液後，以高效液相層析儀 (HPLC, Agilent 1100) 分析之方法，層析管為 Agilent ZORBAX SB-C18，5 μm ，內徑 3 mm \times 15 cm，移動相溶液為甲醇 / 去離

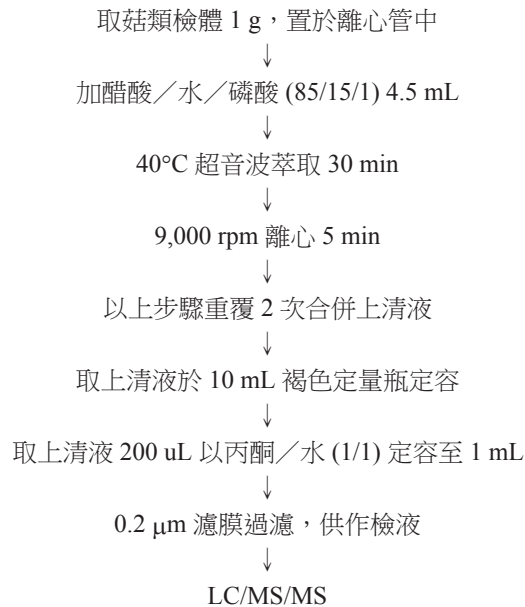
子水 / 磷酸 (85/15/1)，流速 0.6 mL/min，使用光二極體陣列檢出器 (photodiode array detector)，波長 235 nm。

方法三 (圖三) 菇類中游離棉酚之檢驗方法，標準溶液之配製為取棉酚對照用標準品約 0.1 g，精確稱定，以氰甲烷 / 0.2% 磷酸 (85/15) 溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，避光於 -18°C 貯存備用。臨用時精確量取適量標準原液，以丙酮 / 水 (1/1) 稀釋至 0.001 ~ 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。



圖二、(方法二) 飼料中游離棉酚之檢驗方法。

Fig. 2. (Method II) Flow chart of gossypol residue analysis method in feedstuffs.



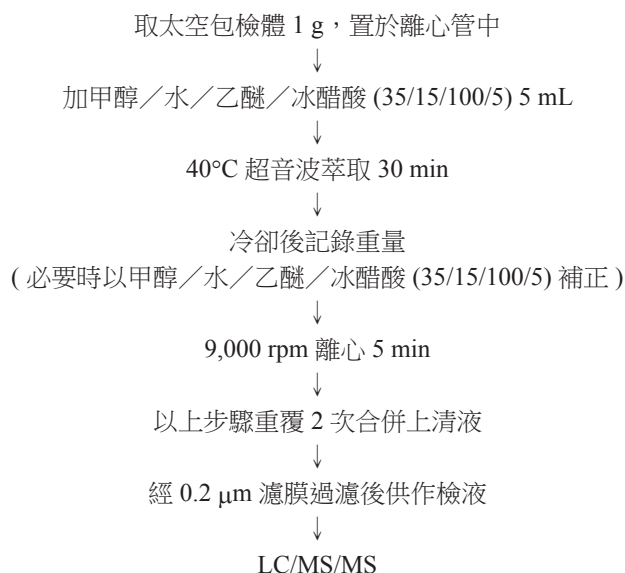
圖三、(方法三) 菇類中游離棉酚之檢驗方法。

Fig. 3. (Method III) Flow chart of gossypol residue analysis method in mushrooms.

基質匹配檢量線之製作為取空白檢體，依方法三調製空白檢液原液，分別量取 200 μL 空白檢液原液，分別加入 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液 10 ~ 500 μL ，再加入適量丙酮／水 (1/1) 使體積為 1,000 μL ，供作基質匹配檢量線溶液，製作成 0.001 ~ 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之基質匹配檢量線。樣品依方法三調製檢液後，以液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 分析之方法，其儀器條件如下：(1) 離子源：電灑離子化 (electrospray ionization, ESI)，(2) 層析管：Chromolith® Performance RP-18e，長度 100 mm，內徑 3.0 mm，(3) 保護管柱：Chromolith® Guard Column RP-18e，長度 5 mm，內徑 4.6 mm，(4) 移動相溶液 A：以 999 mL 純水加入 1 mL 甲酸混合均勻，以

0.2 μm 濾膜過濾備用；移動相溶液 B：量取 700 mL 氘甲烷和 300 mL 異丙醇混合，加入 1 mL 甲酸混合均勻，以 0.2 μm 濾膜過濾備用；移動相流速為 0.4 mL/min，(5) 注入體積：5 μL ，(6) 電噴灑電壓 (IonSpray Voltage)：-4,500 V，(7) 離子源溫度 (ion source temperature)：500°C，(8) 氣簾氣壓力 (curtain gas, CMR)：15 psi，(9) 霧化器壓力 (nebulizer gas, GS1)：50 psi，(10) 輔助加熱氣壓力 (auxiliary gas, GS2)：60 psi，(11) 偵測模式：多重反應偵測 (multiple reaction monitoring, MRM) 負離子模式，前驅離子 m/z 是 517，定量離子是 231，定性離子分別是 489、471、259、499 及 461。

方法四 (圖四) 太空包中游離棉酚之檢

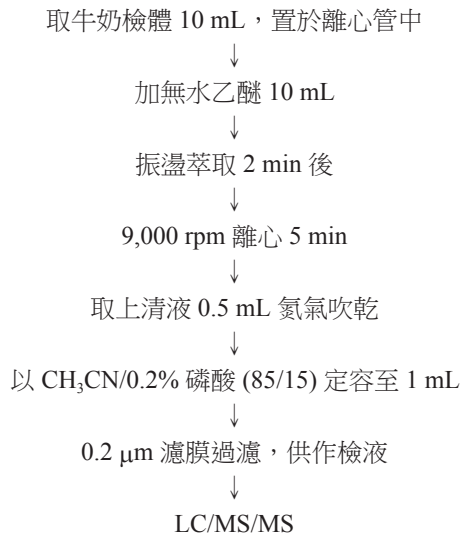


圖四、(方法四) 太空包中游離棉酚之檢驗方法。

Fig. 4. (Method IV) Flow chart of gossypol residue analysis method in forest mushroom compost.

驗方法，標準溶液之配製為取棉酚對照用標準品約 0.1 g，精確稱定，以氫甲烷 / 0.2 % 磷酸 (85/15) 溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，避光於 -18°C 貯存備用。臨用時精確量取適量標準原液，以甲醇 / 水 / 乙醚 / 醋酸 (35/15/100/5) 稀釋至 0.002 ~ 0.1 μg/mL，供作標準溶液。基質匹配檢量線之製作為取空白檢體，依方法四調製空白檢液原液，分別量取 500 μL 空白檢液原液，分別加入 0.2 μg/mL 標準溶液 10 ~ 500 μL，再加入適量甲醇 / 水 / 乙醚 / 醋酸 (35/15/100/5) 使體積為 1000 μL，供作基質匹配檢量線溶液，製作成 0.002 ~ 0.1 μg/mL 之基質匹配檢量線。樣品依方法四調製檢液後，以液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 分析之方法。

方法五 (圖五) 牛奶中游離棉酚之檢驗方法，標準溶液之配製為取棉酚對照用標準品約 0.1 g，精確稱定，以氫甲烷 / 0.2% 磷酸 (85/15) 溶解並定容至 100 mL，作為標準原液，避光於 -18°C 貯存備用。臨用時精確量取適量標準原液，以氫甲烷 / 0.2% 磷酸 (85/15) 稀釋至 0.005 ~ 0.2 μg/mL，供作標準溶液。基質匹配檢量線之製作為取空白檢體，依方法五調製空白檢液原液，分別量取 0.5 mL 空白檢液原液氮氣吹乾，加入 1 mL 之標準溶液混合均勻，供作基質匹配檢量線溶液，分別製作 0.005 ~ 0.2 μg/mL 之基質匹配檢量線。樣品依方法五調製檢液後，以液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 分析之方法。



圖五、(方法五)牛奶中游離棉酚之檢驗方法。

Fig. 5. (Method V) Flow chart of gossypol residue analysis method in milk.

棉酚於各儀器最低偵測極限 (instrument detection limit, IDL)，為強度之訊噪比 (S/N) 大於 3 以上，其 IDL 於棉籽、棉籽殼及棉籽粕中為 $0.8 \mu\text{g/mL}$ 、飼料中為 $0.05 \mu\text{g/mL}$ ($\times 100 \text{ ul}$)、菇類中為 $0.001 \mu\text{g/mL}$ ($\times 5 \text{ ul}$)、太空包中為 $0.002 \mu\text{g/mL}$ ($\times 5 \text{ ul}$)、牛奶中為 $0.005 \mu\text{g/mL}$ ($\times 5 \text{ ul}$)；另檢驗方法「定量極限」(limit of quantitation, LOQ) 於棉籽、棉籽殼及棉籽粕中為 100 mg/kg 、飼料中為 5 mg/kg ，於菇類、太空包及牛奶中則依照本研究的萃取及淨化方式，分別製作基質匹配檢量線後，經液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 檢測，於菇類中為 0.05 mg/kg 、太空包中為 0.02 mg/kg 、牛奶中為 0.01 mg/L ，詳見表一。

方法確效則分別進行 (1) 棉籽、棉籽殼

及棉籽粕；(2) 泌乳牛料及肉雞飼料；(3) 杏鮑菇類子實體；(4) 完成走菌之太空包；(5) 生乳中進行 2 種濃度 3 重複之回收試驗，加以定量求出其回收率 (recovery, R%) 及計算 3 重複試驗之變異係數 (coefficient of variation, CV)，添加低濃度棉酚 ($0.1 \sim 2,500 \text{ mg/kg}$) 於不同樣品種類的空白樣品中，其樣品中的平均回收率為 $67 \sim 100\%$ ，重複性試驗之變異係數 (CV) 在 $1 \sim 18\%$ 間，而添加高濃度棉酚 ($1 \sim 5,000 \text{ mg/kg}$) 回收試驗的平均回收率為 $73 \sim 99\%$ ，重複性試驗之變異係數 (CV) 在 $1 \sim 7\%$ 間，其方法靈敏度足夠執行歐盟及美國最高容許量之法規要求，詳見表二。

利用建立的方法，進行農產品中棉酚殘留的調查，在 18 件棉籽、棉籽殼、棉籽

表一、5 種分析方法之儀器最低偵測極限與定量極限之比較

Table 1. Comparison of IDL and LOQ for five methods studied

Method	Method I	Method II	Method III	Method IV	Method V
Instrument	Spectrophotometric determination	HPLC	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Sample	cottonseed, cottonseed hulls, and cottonseed meal	feedstuffs	mushrooms	forest mushroom compost	milk
Instrument detection limit (mg/L)	0.8	0.05	0.001	0.002	0.005
Limit of quantitation (mg/kg)	100	5	0.05	0.02	0.01

表二、不同基質與方法中棉酚回收率測試結果

Table 2. Gossypol recovery results from different methods and matrixes

Type of sample	Method	Low concentration			High concentration		
		Spike level (mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)	Spike level (mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)
Cottonseed	I	2,500	87	12	5,000	82	6
Cottonseed hulls	I	500	100	4	1,000	99	6
Cottonseed meal	I	500	100	2	1,000	98	8
Feedstuffs for adult cattle	II	100	95	1	200	92	3
Feedstuffs for poultry (chicken)	II	100	93	2	200	94	1
Mushrooms	III	0.25	67	8	1	77	1
Forest mushroom compost	IV	0.2	81	4	1	84	3
Milk	V	0.1	81	18	1	73	7

餅及棉籽粕樣品中，皆檢出棉酚殘留，除 4 件棉籽樣品殘留量為 6,347 ~ 7,325 ppm，其餘檢測結果符合歐盟對棉籽、棉籽殼及棉籽餅中的棉酚含量規定棉籽 ≤ 5,000 mg/kg、棉籽殼及棉籽餅 ≤ 1,200 mg/kg；在 12 件

泌乳牛料、肉鴨飼料及肉雞飼料樣品中，於 2 件泌乳牛料中檢出棉酚殘留，其檢測結果符合歐盟對於牛每日飼料中的棉酚含量限制值分別為：成年牛 ≤ 500 mg/kg、犢牛 ≤ 100 mg/kg，其他不含棉籽粕的飼料需

≤ 20 mg/kg；在 4 件菇類子實體樣品中，皆未檢出棉酚殘留；在 24 件殺菌製備之太空包及完成走菌之太空包樣品中，於 13 件太空包中檢出棉酚殘留，其殘留量皆 < 10 mg/kg；在 5 件生乳樣品中，皆未檢出棉酚殘留，詳見表三，結果顯示棉酚並無因太空包中殘留棉酚進而污染菇類子實體，或因飼料中殘留棉酚進而污染生乳。本研究藉由監測農產品中棉酚殘留現況，及時因應媒體報導，俾避免影響農民收益及消費者對農產品安全之信心，提升棉酚檢驗技術，使其檢驗能力符合法規面之偵測極限需求，並確保檢驗品質穩定性。

謝辭

本研究承蒙本組林鳳宜小姐、李麗茹

小姐、陳麗雯小姐等協助試驗進行，謹此致謝。

引用文獻

1. 中華人民共和國國家技術監督局。1991。飼料中游離棉酚的測定方法。GB 13086-91。
2. 中華人民共和國國家技術監督局。2003。植物性食品中游離棉酚的測定。GB/T 5009.148-2003。
3. 中華人民共和國進出口商品檢驗局。1996。出口飼料中棉酚檢驗方法液相色譜法。SN 0535-1996。
4. 中華人民共和國農業部。2007。棉籽中棉酚旋光體的測定高效液相色譜法。NY/T 1382-2007。

表三、63 件樣品中棉酚殘留結果

Table 3. Gossypol residues in 63 samples analyzed

Type of sample	Method	No. of sample	No. of sample detected	Gossypol residue (mg/kg)
Cottonseed	I	8	8	2,809 ~ 7,325
Cottonseed hulls	I	7	7	186 ~ 379
Cottonseed cake	I	1	1	749
Cottonseed meal	I	2	2	268 ~ 426
Feedstuffs for adult cattle	II	6	2	79 ~ 206
Feedstuffs for poultry (duck)	II	3	0	ND
Feedstuffs for poultry (chicken)	II	3	0	ND
Mushroom	III	4	0	ND
Forest mushroom compost	IV	24	13	0.05 ~ 8.18
Milk	V	5	0	ND

5. 祁凌云、張淑環、王家祥。1984。棉籽餅對公母豬繁殖性能的影響。畜牧獸醫學報 3: 13-18。
6. 國衛院國家環境毒物研究中心。2013。棉籽粕中殘留的棉籽酚。取自 <http://nehrc.nhri.org.tw/foodsafety/ref/%E6%A3%89%E7%B1%BD%E7%B2%9520131029.pdf>
7. 衛生福利部食品藥物管理署。2013。食用油中游離棉籽酚之檢驗方法。TFDAO 0013.01。
8. Aoyama, K. 2008. Determination of gossypol in feeds by HPLC. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 49: 303-307.
9. Botsoglou, N. A., and Kufidis, D. C. 1990. Determination of total gossypol in cottonseed and cottonseed meals by derivative UV spectrophotometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73: 447-451.
10. Cai, Y., Zhang, H., Zeng, Y., Mo, J., Bao, J., Miao, C., Bai, J., Yan, F., and Chen, F. 2004. An optimized gossypol high-performance liquid chromatography assay and its application in evaluation of different gland genotypes of cotton. *J. Biosci.* 29: 67-71.
11. Chandrashekar, R., Kudle, K. R., Chaitanya, P. J., and Bhavani, N. L. 2013. Gossypol analysis in bt and non-bt cotton seed extracts by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Int. J. Herb. Med.* 1: 2321-2187.
12. Chen, L., Leng, X., Li, X., Wang, X., Li, N., Zhou, L., Zhang, Z., Dong, X., Yao, J., and Chai, X. 2012. Optimized HPLC method for determining free gossypol content in cottonseed meal. *Chinese J. Anim. Nutr.* 24: 1320-1328.
13. Cui, G. H., Chun, J. C., and Cai, D. Y. 2002. Determination of gossypol in cotton root bark by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 27: 173-175. (in Chinese with English abstract)
14. European Food Safety Authority. 2008. Gossypol as undesirable substances in animal feed. *EFSA J.* 908: 1-55.
15. Lv, Y., Wang, X., Zhao, Q., and Zhang, J. 2010. Research situation on gossypol safety limit in feed and gossypol residues in livestock product. *Chinese Agric. Sci. Bull.* 26(24): 1-5.
16. Mirghani, M. E. S., and Man, Y. B. C. 2003. A new method for determining gossypol in cottonseed oil by FTIR spectroscopy. *JAOCS* 80: 625-628.
17. Official Journal of the European Union. 2009. Methods of analysis to control undesirable substances in feed. *Official Journal of the European Union* 52: 94-96.
18. Official Journal of the European Union. 2010. Commission directive 2010/6/EU of 9 February 2010 amending annex I to directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards mercury, free gossypol, nitrites and *Mowrah, Bassia, Madhuca* (1). *Official Journal*

- of the European Union 53: 29-32.
19. Risco, C. A., Holmberg, C. A., and Kutches, A. 1992. Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. *JDS* 75: 2787-2798.
 20. Tchatchueng, J. B., and Porte, C. 2008. Specific method for spectrophotometric determination of gossypol. *AJSR* 1: 589-597.
 21. Wang, J., Wang, X., Chen, F., Wan, P. J., He, G., and Li, Z. 2005. Development of competitive direct ELISA for gossypol analysis. *J. Agric. Food Chem.* 53: 5513-5517.

Analytical Methodology to Detect Gossypol Residue in Agricultural Products

Hui-Shan Chen¹, Sz-Ying Chen¹, Tsyng-Horng Shyu¹, Chen-Hua Huang^{1*}

Abstract

Chen, H. S., Chen, S. Y., Shyu, T. H., and Huang, C. H. 2016. Analytical methodology to detect gossypol residue in agricultural products. *Taiwan Pestic. Sci.* 1: 183-194.

To investigate sources of gossypol residue in cottonseed- and mushroom-based products, we developed five analytical methods to detect this pollutant in agricultural products. Specifically, to detect gossypol residues, we used a solvent to extract a gossypol sample and then analyzed this sample using a spectrophotometer, high performance liquid chromatography, or a liquid chromatograph/tandem mass spectrometer. Data showed that average recovery ranged from 67% to 100%, and the standard deviation (of triplicate experiments) was less than 20%. Moreover, our methods were quick and accurate for both quantitative and qualitative determination of gossypol, and gossypol limits of quantitation were 100 mg/kg in cottonseed, cottonseed hulls, and cottonseed meal; 5 mg/kg in feedstuff; 0.05 mg/kg in mushroom; 0.02 mg/kg in forest mushroom compost; and 0.01 mg/L in milk. Therefore, our proposed methods are suitable for the determination and screening of residues in the aforementioned agricultural products. Using our proposed methods, we further showed that accorded the European Union maximum levels of gossypol in animal feed (including feed material and complete feedstuff). Indeed, of the 63 agricultural product samples we analyzed, gossypol was detected in 23 of them. Furthermore, the concentration of detected gossypol ranged from 6,347 to 7,325 mg/kg in 4 cottonseed samples. Our proposed methods can should be applicable to the routine monitoring of gossypol residues and can improve the quality and safety of agricultural products.

Key words: gossypol, agricultural products, feedstuff, growing medium, matrix matched.

Accepted: September 8, 2016.

* Corresponding author, Email: chhuang@tactri.gov.tw

¹ Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung.