

食品中黴菌毒素檢驗方法－玉米赤黴毒素之檢驗
Method of Test for Mycotoxin in Foods- Test of Zearalenone

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於穀類及其製品中玉米赤黴毒素(zearalenone)之檢驗。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)。

2.1 裝置：

2.1.1 高效液相層析儀：

2.1.1.1 檢出器：具有激發波長 274 nm 及發射波長 440 nm 之螢光檢出器 (fluorescence detector)。

2.1.1.2 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 25 cm 或同級品。

2.1.2 旋渦混合器 (Vortex mixer)。

2.1.3 離心機 (Centrifuge)：轉速可達 3000 rpm 以上者。

2.1.4 氮氣蒸發裝置 (Nitrogen evaporator)。

2.1.5 超音波振盪器 (Ultrasonicator)。

2.2 試藥：氯化鉀採用試藥級，乙腈及甲醇採用液相層析級；玉米赤黴毒素對照用標準品。

2.3 器具及材料：

2.3.1 離心管：50 mL，附 PP 材質螺旋蓋。

2.3.2 容量瓶：10 mL。

2.3.3 微量吸管：100 μL 。

2.3.4 濾膜：直徑 47 mm，孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。

2.3.5 濾紙：Whatman No. 1，直徑 11 cm，或同級品。

2.3.6 玻璃纖維濾紙：直徑 9 cm。

2.3.7 免疫親和性管柱 (Immunoaffinity column)：採用內含對玉米赤黴毒素具專一性單株抗體之 ZearalaTestTM 管柱或同級品。

2.3.8 針筒過濾器 (Syringe filter)：濾膜孔徑 0.45 μm ，PTFE 材質。

2.4 移動相溶液之調製：

取去離子水與乙腈以 50：50 (v/v) 混勻後，以濾膜過濾後備用。使用前以超音波振盪除氣 30 分鐘後供作移動相溶液。

2.5 標準溶液之配製：

取玉米赤黴毒素對照用標準品 10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至 10 mL 作為標準原液，冷凍儲存。使用時取標準原液 100 μL 以移動相溶液稀釋成 5~200 ppb，供作標準溶液。標準

溶液若存放超過一個月，需重新配製。

2.6 檢液之調製：

取磨碎混勻之檢體 5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，加氯化鉀 0.5 g，再加入 90% 乙腈溶液 12.5 mL，以旋渦混合器震盪 2 分鐘後，以 3000 rpm 離心 3 分鐘，再以濾紙過濾，取濾液 2 mL 加水 18 mL 混勻後，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液 10 mL，以每秒 1 滴之流速通過免疫親和性管柱，待濾液完全通過管柱後，以水 10 mL 沖洗 2 次，流速 1 滴/秒。待管柱內水排淨後，取甲醇 1 mL，以每秒 1 滴之流速沖提，收集沖提液，以氮氣吹乾。殘留物以移動相溶液溶解，並定容至 1 mL，以針筒過濾，取濾液供作檢液。

2.7 檢量線之製作：

精確量取各標準溶液添加於檢體中，依 2.6 節調製檢液，並參照下列條件進行高效液相層析測定，就檢液波峰面積與對應之標準品添加濃度製作檢量線。

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Cosmosil 5C18-AR，5 μm，內徑 4.6 mm × 25 cm，
或同級品。

螢光檢出器：激發波長為 274 nm，發射波長為 440 nm。

移動相溶液：依 2.4 節調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

2.8 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 50 μL，分別注入高效液相層析儀中，參照 2.7 節高效液相層析測定條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中玉米赤黴毒素之含量 (ppb)：

$$\text{檢體中玉米赤黴毒素含量 (ppb)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中玉米赤黴毒素之濃度 (ng/mL)

V：檢體最後定容之體積 (mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g)

附註：1. 本檢驗方法之檢出限量為 5 ppb。

2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。

3. 以本檢驗方法檢出毒素時，應利用 LC/MS/MS 等進行確認。