

## 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：螢光檢出器(fluorescence detector)。
      - 2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5  $\mu\text{m}$ ，內徑 4.6 mm  $\times$  25 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 振盪器(Shaker)。
    - 2.1.3. 離心機(Centrifuge)：可達 3000 rpm 以上者。
    - 2.1.4. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
  - 2.2. 試藥：氯化鉀採用試藥級；乙腈及甲醇均採用液相層析級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 M $\Omega$ ·cm 以上)；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，PP 材質。
    - 2.3.2. 容量瓶：10 mL。
    - 2.3.3. 濾膜：直徑 47 mm，孔徑 0.45  $\mu\text{m}$ ，Nylon 材質。
    - 2.3.4. 濾紙：Whatman No. 1，直徑 11 cm，或同級品。
    - 2.3.5. 玻璃纖維濾紙：直徑 9 cm。
    - 2.3.6. 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 ZearalaTest™ 管柱，或同級品。
    - 2.3.7. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑 0.45  $\mu\text{m}$ ，PTFE 材質。
  - 2.4. 90%乙腈溶液之調製：

取乙腈 90 mL，加去離子水使成 100 mL。
  - 2.5. 移動相溶液之調製：

取去離子水與乙腈以 1：1 (v/v)比例混勻後，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。臨用時取適量標準原液，以乙腈稀釋至 25 µg/mL，供作標準溶液。

## 2.7. 檢液之調製：

將檢體磨碎混勻後，取約 5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，加氯化鉀 0.5 g 及 90% 乙腈溶液 12.5 mL，振盪 2 分鐘，以 3000 rpm 離心 3 分鐘，再以濾紙過濾，取濾液 2 mL，以去離子水定容至 20 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，以去離子水 10 mL 沖洗 2 次，流速 1 滴/秒。待管柱內去離子水排淨後，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，以針筒過濾器過濾，取濾液供作檢液。

## 2.8. 檢量線之製作：

精確量取標準溶液 1~40 µL，添加於空白檢體中，依 2.7. 節調製檢量線溶液，並依下列條件進行液相層析，就玉米赤黴毒素之波峰面積，與對應之濃度，製作 2~80 ng/mL 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。

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 2.5. 節調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

注入量：50 µL。

## 2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及檢量線溶液各 50 µL，分別注入高效液相層析儀中，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)：

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

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)

F：稀釋倍數(12.5)

- 附註：1. 本檢驗方法之定量極限為 5 ppb。
2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，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。

參考文獻：

Ok, H. E., Choi, S. W., Kim, M. and Chun, H. S. 2014. HPLC and UPLC methods for the determination of zearalenone in noodles, cereal snacks and infant formula. Food Chem. 163: 252-257.