

# 食品中黴菌毒素檢驗方法－玉米赤黴毒素之檢驗 修正總說明

為加強天然毒素之管理，並依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，爰擬具「食品中黴菌毒素檢驗方法－玉米赤黴毒素之檢驗」，其修正要點如下：

- 一、「裝置」增列「振盪器」，並刪除「旋渦混合器」及「超音波振盪器」。
- 二、「試藥」增列「去離子水」。
- 三、「器具及材料」修正「容量瓶」及刪除「微量吸管」。
- 四、增列「乙腈溶液之調製」及「參考文獻」。
- 五、修正「標準溶液之配製」、「檢液之調製」、「檢量線之製作」及含量測定之計算公式。

# 食品中黴菌毒素檢驗方法－玉米赤黴毒素之檢驗 修正對照表

修正規定	現行規定	說明
<p>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。</p> <p>2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 高效液相層析儀：</p> <p>2.1.1.1. 檢出器：螢光檢出器(fluorescence detector)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。</p> <p>2.1.2. 振盪器(Shaker)。</p> <p>2.1.3. 離心機(Centrifuge)：可達3000 rpm以上者。</p> <p>2.1.4. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。</p> <p>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 MΩ·cm以上)；玉米赤黴毒素對照用標準品。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。</p> <p>2.3.2. 容量瓶：10 mL及20 mL。</p> <p>2.3.3. 濾膜：直徑47 mm，孔徑0.45 μm，Nylon材質。</p> <p>2.3.4. 濾紙：Whatman No. 1，直徑11 cm，或同級品。</p> <p>2.3.5. 玻璃纖維濾紙：直徑9 cm。</p> <p>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。</p> <p>2.3.7. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑0.45 μm，PTFE材質。</p> <p>2.4. 90%乙腈溶液之調製：取乙腈90 mL，加去離子水使成100</p>	<p>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。</p> <p>2. 檢驗方法：高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 高效液相層析儀：</p> <p>2.1.1.1. 檢出器：<u>具有激發波長274 nm及發射波長440 nm之螢光檢出器</u>(fluorescence detector)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。</p> <p>2.1.2. <u>旋渦混合器(Vortex mixer)</u>。</p> <p>2.1.3. 離心機(Centrifuge)：<u>轉速</u>可達3000 rpm以上者。</p> <p>2.1.4. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。</p> <p><u>2.1.5. 超音波振盪器(Ultrasonicator)</u>。</p> <p>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。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 離心管：50 mL，<u>附PP材質螺旋蓋</u>。</p> <p>2.3.2. 容量瓶：10 mL。</p> <p><u>2.3.3. 微量吸管：100 μL。</u></p> <p>2.3.4. 濾膜：直徑47 mm，孔徑0.45 μm，Nylon材質。</p> <p>2.3.5. 濾紙：Whatman No. 1，直徑11 cm，或同級品。</p> <p>2.3.6. 玻璃纖維濾紙：直徑9 cm。</p> <p>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ZearalaTest™管柱或同級品。</p> <p>2.3.8. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑0.45 μm，PTFE材質。</p>	<p>一、「裝置」增列「振盪器」，並刪除「旋渦混合器」及「超音波振盪器」。</p> <p>二、「試藥」增列「去離子水」。</p> <p>三、「器具及材料」修正「容量瓶」及刪除「微量吸管」。</p> <p>四、增列「乙腈溶液之調製」及「參考文獻」。</p> <p>五、修正「標準溶液之配製」、「檢液之調製」、「檢量線之製作」及含量測定之計算公式。</p> <p>六、增修訂部分文字。</p>

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。

2.4. 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，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，以針筒過濾器過濾，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。

<p>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)： 檢體中玉米赤黴毒素之含量(ppb)</p> $= \frac{C \times V \times F}{M}$ <p>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)</p> <p>附註：1. 本檢驗方法之<u>定量極限</u>為5 ppb。 2. <u>檢體</u>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。</p> <p><u>參考文獻：</u> 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.</p>	<p>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)： 檢體中玉米赤黴毒素含量(ppb)</p> $= \frac{C \times V}{M}$ <p>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)</p> <p>附註：1. 本檢驗方法之<u>檢出限量</u>為5 ppb。 2. <u>食品</u>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。</p>	
---	---	--