

食品中黴菌毒素檢驗方法—玉米及其製品中伏馬毒素 B<sub>1</sub>和B<sub>2</sub>之檢驗(草案)  
Method of Test for Mycotoxin in Foods— Test of Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in  
Corn and Corn Products

1. 適用範圍：本方法適用於玉米及其製品中伏馬毒素B<sub>1</sub> (fumonisin B<sub>1</sub>) 及伏馬毒素B<sub>2</sub> (fumonisin B<sub>2</sub>)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取、淨化及衍生化後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。

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：RP-18，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。

2.1.2. 離心機(Centrifuge)：可達2500 × g者。

2.1.3. 酸鹼度測定儀(pH meter)。

2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。

2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。

2.1.6. 均質機(Homogenizer)。

2.2. 試藥：

甲醇及乙腈均採液相層析級；磷酸二氫鈉(NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O)、鄰苯二甲醛(*o*-phthaldialdehyde)、乙硫醇(2-mercaptoethanol)、四硼酸鈉(Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 10H<sub>2</sub>O)、磷酸氫二鈉(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、鹽酸、磷酸、氯化鈉及氯化鉀均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ · cm以上)；伏馬毒素B<sub>1</sub>及B<sub>2</sub>對照用標準品。

2.3. 器具及材料<sup>(註)</sup>：

2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。

2.3.2. 容量瓶：10 mL、100 mL 及 1000 mL，褐色。

2.3.3. 濾紙：直徑 12 cm。

2.3.4. 玻璃纖維濾紙：直徑9 cm。

2.3.5. 玻璃過濾器(Glass filter holder)。

2.3.6. 免疫親和性管柱(Immunoaffinity column)：採用內含對伏馬毒素具有專一性單株抗體之Vicam管柱，或同級品。

2.3.7. 濾膜：孔徑0.45  $\mu\text{m}$ ，Nylon材質。

註：操作時，應使用褐色或不透光之器具。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 0.1M磷酸二氫鈉溶液：

稱取磷酸二氫鈉15.6 g，溶於去離子水使成1 L。

2.4.2. 0.1M四硼酸鈉溶液：

稱取四硼酸鈉3.8 g，溶於去離子水使成100 mL。

2.4.3. 萃取溶液：

取乙腈、甲醇及去離子水以1：1：2 (v/v)比例混勻。

2.4.4. 2N鹽酸溶液：

取鹽酸180 mL，緩緩加入去離子水500 mL中，再加去離子水使成1000 mL。

2.4.5. 磷酸鹽緩衝溶液：

稱取氯化鈉8 g、磷酸氫二鈉1.2 g、磷酸二氫鉀0.2 g及氯化鉀0.2 g，加去離子水990 mL溶解，以2N鹽酸溶液調整pH值至7.0，以去離子水定容至1 L。

2.4.6. 鄰苯二甲醛溶液：

稱取鄰苯二甲醛40 mg，溶於甲醇1 mL，加0.1M四硼酸鈉溶液5 mL及乙硫醇50  $\mu\text{L}$ 混勻，於室溫避光儲存，可保存一週。

2.4.7. 50%乙腈溶液：

取乙腈及水以1：1 (v/v)比例混勻。

2.5. 移動相溶液之調製：

取甲醇及0.1M磷酸二氫鈉溶液以77：23 (v/v)比例混勻，以磷酸調整pH至3.3後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取伏馬毒素 $B_1$ 及 $B_2$ 對照用標準品各約1 mg，精確稱定，共置於10 mL定容瓶中，以50%乙腈溶液溶解並定容，作為標準原液。臨用時，再以50%乙腈溶液稀釋至1~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供作標準溶液。

2.7. 衍生化標準溶液之調製：

精確量取不同濃度之標準溶液50  $\mu\text{L}$ 於褐色玻璃瓶中，加入鄰苯

二甲醛溶液50  $\mu$ L，振盪混勻30秒，反應3分鐘後，供作衍生化標準溶液。

註：伏馬毒素-鄰苯二甲醛衍生物於3分鐘後螢光即逐漸退化，必須確實控制注入液相層析系統中之時間。

## 2.8. 檢液之調製：

### 2.8.1. 萃取：

將檢體磨碎混勻後，取約20 g，精確稱定，加入萃取溶液50 mL，均質2分鐘，以2500  $\times$  g離心10分鐘，以濾紙過濾，取上清液。沉澱物再加萃取溶液50 mL，重複操作一次。合併上清液，以萃取溶液定容至100 mL，供淨化用。

### 2.8.2. 淨化：

精確量取供淨化用溶液10 mL，置於離心管中，加入磷酸緩衝溶液40 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，注入免疫親和性管柱，流速控制每秒1~2滴，棄流出液，再以磷酸鹽緩衝溶液10 mL清洗管柱，俟管柱內溶液排淨後，以甲醇1.5 mL沖提，流速控制每秒1~2滴，收集沖提液，以氮氣吹乾，殘留物以50%乙腈溶液200  $\mu$ L溶解後，經濾膜過濾，取濾液供衍生化用。

### 2.8.3. 衍生化：

精確量取供衍生化用溶液50  $\mu$ L，依2.7.節進行衍生化反應，供作檢液。

## 2.9. 檢量線之製作：

精確量取不同濃度之標準溶液0.5 mL，添加於空白檢體中，使各伏馬毒素之含量分別為0.5~50  $\mu$ g，依2.8.節檢液之調製同樣操作，並依下列條件進行液相層析分析，就各伏馬毒素之波峰面積與對應之各伏馬毒素含量( $\mu$ g)，分別製作檢量線。

高效液相層析測定條件：

層析管柱：RP-18，5  $\mu$ m，內徑4.6 mm  $\times$  25 cm。

螢光檢出器：激發波長335 nm，發射波長440 nm。

移動相溶液：依2.5.節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

注入量：20  $\mu\text{L}$ 。

2.10. 鑑別試驗與含量測定：

精確量取檢液及衍生化標準溶液各20  $\mu\text{L}$ ，分別注入液相層析儀中，依2.9節條件進行分析。就檢液與衍生化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伏馬毒素 $B_1$ 或 $B_2$ 之含量(ppm)：

$$\text{檢體中伏馬毒素}B_1\text{或}B_2\text{之含量(ppm)} = \frac{C}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中伏馬毒素 $B_1$ 或 $B_2$ 之含量( $\mu\text{g}$ )

M：取樣分析檢體之重量(g)

附註：

1. 本檢驗方法之檢出限量，伏馬毒素 $B_1$ 及 $B_2$ 分別為0.03及0.07 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。