

## 食品中黴菌毒素檢驗方法－脫氧雪腐鐮刀菌烯醇之檢驗

### Method of Test for Mycotoxin in Foods - Test of Deoxynivalenol

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於穀類及其製品中脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)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：具有波長 220 nm 之紫外光檢出器。
      - 2.1.1.2 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5  $\mu$ m，內徑 4.6 mm  $\times$  25 cm，或同級品。
    - 2.1.2 均質機(Homogenizer)。
    - 2.1.3 旋渦混合器(Vortex mixer)。
    - 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：聚乙二醇(polyethylene glycol)採用試藥特級，乙腈、甲醇採用液相層析級；DON 對照用標準品。
  - 2.3 器具及材料：
    - 2.3.1 離心管：15 mL、50 mL，附 PP 材質螺旋蓋。
    - 2.3.2 漏斗。
    - 2.3.3 濾膜：直徑 47 mm，孔徑 0.45  $\mu$ m，Nylon 材質。
    - 2.3.4 濾紙：Whatman No. 4，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 DON 具專一性單株抗體之 DONtest<sup>TM</sup> 管柱或同級品。
    - 2.3.7 針筒過濾器(Syringe filter)：直徑 4 mm，濾膜孔徑 0.45  $\mu$ m，PTFE 材質。
  - 2.4 移動相溶液之調製：

取去離子水與乙腈以 90：10 (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 DON 對照用標準品約 1 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至 10 mL 作為標準原液，並冷凍儲存；使用時取標準原液 100  $\mu$ L 以移動相溶液稀釋成 50~1000 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：

### 2.6.1. 固態檢體：

固態檢體磨碎混勻後，取檢體約 50 g，精確稱定，置均質杯中，加入聚乙二醇 10 g 及水 200 mL，均質 1 分鐘後，以濾紙過濾，濾液續以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液 1 mL (相當於 1/200 之檢體量)，以每秒 1 滴之流速通過免疫親和性管柱，再以水 5 mL 流洗，流速 1 滴/秒。將管柱內水排淨後，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 0.3 mL 溶解，以針筒過濾器過濾，其濾液供作檢液。

### 2.6.2. 液態檢體：

取檢體約 10 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管，加入聚乙二醇 1 g 及水 10 mL，振盪 1 分鐘後，以濾紙過濾，濾液續以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液 2 mL (相當於 1/10 之檢體量)，以每秒 1 滴之流速通過免疫親和性管柱，再以水 5 mL 流洗，流速 1 滴/秒。將管柱內水排淨後，取甲醇 2 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 1 mL 溶解，以針筒過濾器過濾，其濾液供作檢液。

## 2.7 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 50  $\mu$ L，分別注入高效液相層析儀中，參照下列條件進行液相層析，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 DON 之含量(ppb)：

$$\text{檢體中DON含量(ppb)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中 DON 之濃度(ng/mL)

V：檢液之體積(mL)

F：固態檢體為 200，液態檢體為 10

M：取樣分析之檢體量(g)

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Cosmosil 5C18-AR，5  $\mu$ m，內徑 4.6 mm  $\times$  25 cm，  
或同級品。

紫外光檢出器：波長 220 nm。

移動相溶液：依 2.4 節調製之溶液。

移動相流速：0.7 mL/min。

- 附註：1. 本檢驗方法之最低檢出限量於米及麵為 60 ppb，燕麥片為 70 ppb，麵粉、玉米粒及啤酒為 80 ppb。
2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。