

食品中黴菌毒素檢驗方法－棒麴毒素之檢驗
Method of Test for Mycotoxin in Foods—Test of Patulin

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於蘋果汁及蘋果泥中棒麴毒素之檢驗。
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 276 nm 之紫外光檢出器。

2.1.1.2 層析管：Inertsil ODS-2，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 15 cm，或同級品。

2.1.2 旋渦混合器 (Vortex mixer)。

2.1.3 離心機 (Centrifuge)。

2.1.4 減壓濃縮裝置 (Rotary evaporator)。

2.1.5 超音波振盪器 (Ultrasonicator)。

2.2 試藥：乙腈、乙酸乙酯採用液相層析級；無水硫酸鈉、醋酸、碳酸鈉採用試藥特級；棒麴毒素 (patulin) 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 濃縮瓶：100 mL。

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

2.3.5 濾紙：Whatman No. 4，直徑 11 cm，或同級品。

2.3.6 針筒過濾器 (Syringe filter)：直徑 13 mm，濾膜孔徑 0.45 μm ，PVDF 材質。

2.4 試劑之調製：

2.4.1 1.5%碳酸鈉溶液：

稱取碳酸鈉 1.5 g，以去離子水 100 mL 溶解。

2.4.2 pH 4.0 醋酸溶液：

量取去離子水 100 mL，以醋酸調至 pH 4.0。

2.5 移動相溶液之調製：

取去離子水與乙腈以 90：10 (v/v) 比例混勻後，以 0.45 μm 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。

2.6 標準溶液之配製：

取棒麩毒素對照用標準品約 5 mg，精確稱定，以乙酸乙酯溶解並定容至 50 mL 作為標準原液，並儲存於 2~5℃ 冰箱；使用時取標準原液 100 µL，經 40℃ 水浴氮氣吹乾，再以 pH 4.0 醋酸溶液稀釋成 50~1000 ppb，供作標準溶液。標準溶液若存放超過一週，需重新配製。

2.7 檢液之調製：

取蘋果汁或蘋果泥約 5 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管中。加入乙酸乙酯 10 mL，振盪萃取 1 分鐘後，以 3,000 rpm 離心 3 分鐘。上層液移至 50 mL 離心管，下層液再重複上述萃取步驟一次，合併上層液並加入 1.5% 碳酸鈉溶液 2 mL，振盪萃取 1 分鐘後，以 3,000 rpm 離心 3 分鐘，上層液移至另一 50 mL 離心管，下層液再以乙酸乙酯 5 mL 萃取，合併上層液與無水硫酸鈉 1 g，振盪混合 30 秒後，以濾紙過濾，離心管續以乙酸乙酯 4 mL 溶洗 2 次，合併濾液於濃縮瓶，於 40℃ 水浴，減壓濃縮至 1~2 mL 後，移至 15 mL 離心管，濃縮瓶以乙酸乙酯 2 mL 溶洗 2 次，併入 15 mL 離心管，於 40℃ 水浴氮氣吹乾，殘留物以 pH 4.0 醋酸溶液 0.5 mL 溶解，振盪混合 30 秒後，超音波振盪 5 分鐘，以 3,000 rpm 離心 3 分鐘，續以針筒過濾器過濾後供作檢液。

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棒麩毒素之含量 (ppb)：

$$\text{檢體中棒麩毒素含量 (ppb)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中棒麩毒素之濃度 (ng/mL)

V：檢體最後溶解之體積 (mL)

M：取樣分析之檢體量 (g)

高效液相層析測定條件：

層析管柱：Inertsil ODS-2，5 µm，內徑 4.6 mm × 15 cm，或同級品。

紫外光檢出器：波長 276 nm。

移動相溶液：依 2.5 節調製之溶液。

移動相流速：0.5 mL/min。

- 附註：
1. 本檢驗方法之最低檢出限量為 10 ppb。
 2. 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。