

食品中黴菌毒素檢驗方法－玉米赤黴毒素之檢驗 修正草案對照表

修正規定	現行規定	說明
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 μm, 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；<u>去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)</u>；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及20 mL。 2.3.3. 濾膜：直徑47 mm, 孔徑0.45 μm, 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ZearalaTestTM管柱, 或同級品。 2.3.7. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑0.45 μm, PTFE材質。 2.4. 90%乙腈溶液之調製：<u>取乙腈90 mL, 加去離子水使成100</u>	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：<u>具有激發波長274 nm及發射波長440 nm之螢光檢出器(fluorescence detector)</u>。 2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR, 5 μm, 內徑4.6 mm $\times$ 25 cm 或同級品。 2.1.2. <u>旋渦混合器(Vortex mixer)</u>。 2.1.3. 離心機(Centrifuge)：<u>轉速</u>可達3000 rpm以上者。 2.1.4. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。 2.1.5. <u>超音波振盪器(Ultrasonicator)</u>。 2.2. 試藥：氯化鉀採用試藥級, <u>乙腈及甲醇採用液相層析級</u>；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, <u>附PP材質螺旋蓋</u>。 2.3.2. 容量瓶：10 mL。 2.3.3. <u>微量吸管：100 μL。</u> 2.3.4. 濾膜：直徑47 mm, 孔徑0.45 μm, Nylon材質。 2.3.5. 濾紙：Whatman No. 1, 直徑11 cm, 或同級品。 2.3.6. 玻璃纖維濾紙：直徑9 cm。 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ZearalaTestTM管柱或同級品。 2.3.8. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑0.45 μm, PTFE材質。	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。 六、增修訂部分文字。

<u>mL。</u> 2.5. 移動相溶液之調製： 取去離子水與乙腈以<u>1：1 (v/v)</u>比例混勻後，<u>經濾膜過濾</u>，<u>取濾液</u>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，<u>作為標準原液</u>，冷凍儲存。<u>臨用時取適量標準原液</u>，以<u>乙腈</u>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，<u>取約5 g</u>，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，<u>振盪2分鐘</u>，以3000 rpm離心3分鐘，再以濾紙過濾，<u>取濾液2 mL</u>，<u>以去離子水定容至20 mL</u>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，<u>以去離子水10 mL沖洗2次</u>，流速1滴/秒。待管柱內<u>去離子水</u>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<u>1～40 µL</u>，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<u>玉米赤黴毒素之波峰面積</u>，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。 <u>注入量：50 µL。</u> 2.9. 鑑別試驗及含量測定： 精確量取檢液及<u>檢量線</u>溶液各50	2.4. 移動相溶液之調製： 取去離子水與乙腈以<u>50：50 (v/v)</u>混勻後，<u>以濾膜過濾後備用</u>。使用前以<u>超音波振盪除氣30分鐘後</u>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。<u>使用時取標準原液100 µL以移動相溶液稀釋成5～200 ppb</u>，供作標準溶液。<u>標準溶液若存放超過一個月，需重新配製。</u> 2.6. 檢液之調製： <u>取磨碎混勻之檢體5 g</u>，精確稱定，置50 mL離心管中，加氯化鉀0.5 g，<u>再加入90%乙腈溶液12.5 mL</u>，<u>旋渦混合器震盪2分鐘後</u>，以3000 rpm離心3分鐘，再以濾紙過濾，<u>取濾液2 mL加水18 mL</u>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，<u>以水10 mL沖洗2次</u>，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，<u>並定容至1 mL</u>，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<u>參照</u>下列條件進行<u>高效液相層析測定</u>，就<u>檢液波峰面積與對應之標準品添加濃度</u>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，<u>或同級品。</u> 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。 2.8. 鑑別試驗及含量測定：	
--	---	--

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) $= \frac{C \times V \times F}{M}$ 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<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。 <u>參考文獻</u>： <u>Vicam, ZearalaTest and ZearalaTest WB instruction manual. Milford, MA, USA.</u>	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，<u>參照2.7.節</u>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) $= \frac{C \times V}{M}$ 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) 附註：1. 本檢驗方法之<u>檢出限量</u>為5 ppb。 2. <u>食品中若</u>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。	
--	--	--