

食品中黴菌毒素之檢驗方法－脫氧雪腐鐮刀菌烯醇及其乙醯衍生物
之檢驗(草案)

Method of Test for Mycotoxin in Foods-Test of Deoxynivalenol,
3-Acetyl Deoxynivalenol and 15-Acetyl Deoxynivalenol

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於白米、玉米及小麥中脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(deoxynivalenol)及其乙醯衍生物之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。

2.1. 裝置：

2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：

2.1.1.1. 離子源：電灑離子化負離子(negative ion electrospray ionization, ESI)。

2.1.1.2. 層析管：Inertsil ODS-3，3 μm ，內徑 2.1 mm \times 15 cm，或同級品。

2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。

2.1.3. 振盪器(Shaker)。

2.1.4. 離心機(Centrifuge)：轉速可達 3000 \times g 以上者。

2.1.5. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。

2.1.6. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。。

2.2. 試藥：乙腈採用液相層析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；脫氧雪腐鐮刀菌烯醇、3-乙醯基脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(3-acetyl deoxynivalenol)及15-乙醯基脫氧雪腐鐮刀菌烯醇(15-acetyl deoxynivalenol)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、100 mL 及 1000 mL。

2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm ，Nylon 材質。

2.3.4. 塑膠針筒：1 mL。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 20%乙腈溶液：取乙腈 20 mL，加去離子水使成 100 mL。

2.4.2. 85%乙腈溶液：取乙腈 850 mL，加去離子水使成 1000 mL。

2.4.3. 10%乙腈溶液：取乙腈 10 mL，加去離子水使成 100 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液 A：去離子水以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液 A。

2.5.2. 移動相溶液 B：乙腈。

2.6. 標準溶液之配製：

取脫氧雪腐鐮刀菌烯醇對照用標準品約 1 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至 10 mL；取 3-乙醯基脫氧雪腐鐮刀菌烯醇及 15-乙醯基脫氧雪腐鐮刀菌烯醇對照用標準品各約 1 mg，精確稱定，分別以 20%乙腈溶液溶解並定容至 10 mL，作為標準原液，於-18°C貯存。臨用時分別取適量標準原液混合，以 10%乙腈溶液稀釋至 50~250 ng/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，置於離心管中，加入 85%乙腈溶液 20 mL，振盪 60 分鐘後，以 3000 × g 離心 5 分鐘，取上清液 4 mL，於 40°C 以氮氣吹乾，殘留物加入 10%乙腈溶液 1 mL，以超音波振盪溶解，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 基質匹配檢量線之製作：

取空白檢體依 2.7 節萃取及氮氣吹乾後，分別添加不同濃度標準溶液 1 mL 溶解，以超音波震盪 10 分鐘，經濾膜過濾後，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析。就各黴菌毒素之波峰面積，與對應之各黴菌毒素濃度，分別製作基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜分析測定條件^(註)：

移動相溶液：A液與B液以下列條件進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 10.0	95 → 40	5 → 60
10.0 → 10.01	40 → 0	60 → 100

10.01 → 12.0	0 → 0	100 → 100
12.0 → 12.01	0 → 95	100 → 5
12.01 → 15.0	95 → 95	5 → 5

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：10 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：-4.5 kV。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：500 $^{\circ}$ C。

氣簾氣體(Curtain gas)：20 psi。

霧化氣體(Ion source gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Ion source gas 2)：50 psi。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)與碰撞能量(collision energy)如下表。

分析物	離子對	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
脫氧雪腐鐮刀菌 烯醇	295 > 265 *	-130	-14
	295 > 138	-120	-14
3-乙醯基脫氧雪 腐鐮刀菌烯醇	337 > 307 *	-95	-14
	337 > 173	-70	-14
15-乙醯基脫氧雪 腐鐮刀菌烯醇	337 > 150 *	-105	-22
	337 > 219	-130	-22

*定量離子對

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各10 μ L，分別注入液相層析串聯質譜分析儀中，依2.8.節條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度^(註)鑑別之，並

依下列計算式求出檢體中各黴菌毒素之含量(ppb)：

$$\text{檢體中各黴菌毒素之含量(ppb)} = \frac{C \times V \times 5}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得檢液中各黴菌毒素之濃度
(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相
除而得(≤100%)。容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

附註：1. 本檢驗方法脫氧雪腐鏟刀菌烯醇、3-乙醯基脫氧雪腐鏟刀菌
烯醇及15-乙醯基脫氧雪腐鏟刀菌烯醇之定量極限均為50
ppb。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。