

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

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於花生、玉米、其他穀類及其製品中黃麴毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及 G<sub>2</sub> 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 × 25 cm, 或同級品。
      - 2.1.1.3 光化學反應器：Knitted reactor coils (KRC) 25-25, 或同級品。
    - 2.1.2 均質機 (Homogenizer)：轉速可達 15000 rpm 以上並適用有機溶劑者。
    - 2.1.3 粉碎機 (Grinder)。
  - 2.2 試藥：氯化鈉採用試藥特級；甲醇採用液相層析級；黃麴毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及 G<sub>2</sub> 之對照用混合標準品，濃度分別為 1000 ng/mL、300 ng/mL、1000 ng/mL 及 300 ng/mL。
  - 2.3 器具及材料：
    - 2.3.1 離心管：50 mL，附 PP 材質螺旋蓋。
    - 2.3.2 褐色容量瓶：2 mL、10 mL 及 20 mL。
    - 2.3.3 濾膜：直徑 47 mm，孔徑 0.22 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 塑膠針筒：1 mL 及 10 mL。
    - 2.3.7 免疫親和性管柱 (Immunoaffinity column)：採用內含對黃麴毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及 G<sub>2</sub> 具專一性單株抗體之 AflaTest-P 管柱，或同級品。
    - 2.3.8 針筒過濾器 (Syringe filter)：直徑 13 mm，濾膜孔徑 0.22 μm，PTFE 材質。
  - 2.4 試劑之調製
    - 2.4.1 50% 甲醇溶液：取水與甲醇以 50：50 (v/v) 之比例混勻。
    - 2.4.2 60% 甲醇溶液：取水與甲醇以 40：60 (v/v) 之比例混勻。
    - 2.4.3 80% 甲醇溶液：取水與甲醇以 20：80 (v/v) 之比例混勻。

## 2.5 移動相溶液之調製：

取水與甲醇以 55：45 (v/v) 之比例混勻後，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

## 2.6 標準溶液之配製：

取黃麴毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及 G<sub>2</sub> 對照用混合標準品 1 mL，以 50% 甲醇溶液稀釋並定容至 20 mL，作為標準原液。使用時再以 50% 甲醇溶液稀釋黃麴毒素 B<sub>1</sub> 及 G<sub>1</sub> 至 0.2~50 ng/mL，黃麴毒素 B<sub>2</sub> 及 G<sub>2</sub> 至 0.1~15 ng/mL，供作標準溶液。

## 2.7 檢液之調製：

### 2.7.1 玉米、穀類及其製品：

取磨碎混勻之檢體約 50 g，精確稱定，置於均質機中，加氯化鈉 5 g，再加入 80% 甲醇溶液 100 mL，於 15000 rpm 均質 2 分鐘後，以濾紙過濾。精確量取濾液 10 mL 加水 40 mL 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，以水 10 mL 沖洗 2 次，流速每秒 1 滴。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，加水混合並定容至 2 mL，續以針筒過濾器過濾，取濾液供作檢液。

### 2.7.2 油脂、花生及其製品：

取油脂等液態檢體直接混勻，其他檢體經磨碎混勻後，取約 25 g，精確稱定，置於均質機中，加氯化鈉 5 g，再加入 60% 甲醇溶液 125 mL，於 15000 rpm 均質 2 分鐘後，以濾紙過濾。精確量取濾液 20 mL 加水 20 mL 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，以水 10 mL 沖洗 2 次，流速每秒 1 滴。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，加水混合並定容至 2 mL，續以針筒過濾器過濾，取濾液供作檢液。

## 2.8 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 50  $\mu$ 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黃麴毒素之含量 (ppb)：

$$\text{檢體中黃麴毒素含量 (ppb)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素之濃度 (ng/mL)

V：檢體最終定容之體積 (mL)

F：依 2.7.1 節取樣分析時，F 為 50

依 2.7.2 節取樣分析時，F 為 25

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  $\mu\text{m}$ ，內徑4.6 mm  $\times$  25 cm。

光化學反應器：KRC 25-25。

螢光檢出器：激發波長360 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。

- 附註：1. 本檢驗方法之檢出限量，黃麴毒素 B<sub>1</sub> 為 0.2 ppb、黃麴毒素 B<sub>2</sub> 為 0.1 ppb、黃麴毒素 G<sub>1</sub> 為 0.2 ppb 及黃麴毒素 G<sub>2</sub> 為 0.1 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
3. 以本檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS 等進行確認。
4. 黃麴毒素之檢驗可依行政院衛生署公告指定中華民國國家標準(CNS)總號 4090 類號 N6097 食品中黃麴毒素檢驗法或本檢驗方法，惟檢驗結果有爭議時，應以本檢驗方法為準。