

## 食品中黴菌毒素檢驗方法－乳製品中黃麴毒素M<sub>1</sub>之檢驗

### Method of Test for Mycotoxin in Foods - Test of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Dairy Products

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於液狀乳、粉狀乳及醃酵乳中黃麴毒素M<sub>1</sub> (aflatoxin M<sub>1</sub>)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
  - 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：RP-18，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)：可達2500 ×g以上者。
    - 2.1.3. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
    - 2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
    - 2.1.5. 真空固相萃取裝置(Solid phase vacuum extraction manifold)。
  - 2.2. 試藥：甲醇及乙腈均採液相層析級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；黃麴毒素M<sub>1</sub>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：1 mL及2 mL，褐色。
    - 2.3.3. 免疫親和性管柱(Immunoaffinity column)：採用內含對黃麴毒素M<sub>1</sub>具專一性單株抗體之Vicam管柱，或同級品。
    - 2.3.4. 濾膜：孔徑0.45 μm，PTFE材質。
  - 2.4. 移動相溶液之調製：

取水、乙腈及甲醇以17：6：2 (v/v/v)比例混勻後，經濾膜過濾後，取濾液供作移動相溶液。
  - 2.5. 標準溶液之配製：

取適量黃麴毒素M<sub>1</sub>對照用標準品，以乙腈稀釋至1 μg/mL，作為標準原液，冷凍貯存。臨用時取適當標準原液，以移動相溶液稀釋至0.25～2 ng/mL，供作標準溶液。

## 2.6. 檢液之調製：

### 2.6.1. 萃取：

#### 2.6.1.1. 液狀乳：

將檢體混勻，取約50 g，精確稱定，於4°C，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，供淨化用。

#### 2.6.1.2. 粉狀乳：

將檢體混勻，取約5 g，精確稱定，加去離子水混合並定容至50 mL，於4°C，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，供淨化用。

#### 2.6.1.3. 發酵乳：

將檢體混勻，取約10 g，精確稱定，加去離子水混合並定容至50 mL，供淨化用。

### 2.6.2. 淨化：

取2.6.1.節供淨化用溶液，注入免疫親和性管柱，流速為每秒1滴，棄流出液，以少量去離子水清洗離心管，洗液一併注入管柱，以去離子水10 mL流洗管柱2次，流速為每秒1滴，必要時輔以抽真空。俟管柱內去離子水排淨後，以乙腈4 mL沖提，流速為每秒1滴，收集沖提液，於50°C以氮氣吹乾，殘留物以移動相溶液溶解並定容至2 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

## 2.7. 鑑別試驗與含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各100 μL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行分析，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M<sub>1</sub>之含量(ppb)：

$$\text{檢體中黃麴毒素M}_1\text{之含量(ppb)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素M<sub>1</sub>之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(2 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件<sup>(註)</sup>：

層析管柱：RP-18，5  $\mu\text{m}$ ，內徑4.6 mm  $\times$  25 cm。

螢光檢出器：激發波長365 nm，發射波長435 nm。

注入量：100  $\mu\text{L}$ 。

移動相溶液：依2.4.節所調製之溶液。

移動相流速：1.0 mL/min。

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。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限，液狀乳為0.01 ppb，粉狀乳為0.1 ppb，醱酵乳為0.05 ppb。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

#### 參考文獻：

Mao, J., Lei, S., Liu, Y., Xiao, D., Fu, C., Zhong, L. and Ouyang, H. 2015. Quantification of aflatoxin M1 in raw milk by a core-shell column on a conventional HPLC with large volume injection and step gradient elution Food Control 51: 156-162.