

# 食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗修正草案總說明

為加強天然毒素之管理，並依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，爰擬具「食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗」修正草案，其修正要點如下：

- 一、修正英文名稱。
- 二、適用範圍增加「果乾類、食用油脂、堅果類、油籽類、黃豆類」，並將花生及玉米分別納入堅果類及穀類。
- 三、「試藥」增列對照用混合標準品使用之溶劑。
- 三、「器具及材料」之針筒過濾器修正為濾膜。
- 五、「檢液之調製」增列適用基質。
- 六、「高效液相層析測定條件」增列「若螢光檢出器之感度可達到定量極限之要求，則可不使用光化學反應器」之說明。
- 七、配合衛生標準規定修正黃麴毒素含量及定量極限之單位。
- 八、增列近期之參考文獻。
- 九、增修訂部分文字。

# 食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗修正 草案對照表

修正名稱	現行名稱	說明
食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗 Method of Test for Mycotoxins in Foods - Test of Aflatoxins	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	修正英文名稱。
修正規定	現行規定	說明
<p>1. 適用範圍：本檢驗方法適用於香辛料、<u>穀類、果乾類、食用油脂、堅果類、油籽類、黃豆類</u>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。</p> <p>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。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 高效液相層析儀：</p> <p>2.1.1.1. 檢出器：螢光檢出器 (fluorescence detector)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。</p> <p>2.1.1.3. 光化學反應器：Knitted Reactor Coils (KRC) 25-25，或同級品。</p> <p>2.1.2. 均質機(Homogenizer)：轉速可達15000 rpm以上並適用有機溶劑者。</p> <p>2.1.3. 粉碎機(Grinder)。</p> <p>2.2. 試藥：氯化鈉及Tween-20均採用試藥特級；甲醇採用液相層析級；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(濃度分別為1000、300、1000及300 ng/mL in <u>methanol</u>)。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。</p> <p>2.3.2. 容量瓶：2 mL、10 mL及</p>	<p>1. 適用範圍：本檢驗方法適用於香辛料、<u>油脂、花生、玉米、穀類</u>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。</p> <p>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。</p> <p>2.1. 裝置：</p> <p>2.1.1. 高效液相層析儀：</p> <p>2.1.1.1. 檢出器：螢光檢出器 (fluorescence detector)。</p> <p>2.1.1.2. 層析管：Cosmosil 5C18-AR，5 μm，內徑4.6 mm × 25 cm，或同級品。</p> <p>2.1.1.3. 光化學反應器：Knitted Reactor Coils (KRC) 25-25，或同級品。</p> <p>2.1.2. 均質機(Homogenizer)：轉速可達15000 rpm以上並適用有機溶劑者。</p> <p>2.1.3. 粉碎機(Grinder)。</p> <p>2.2. 試藥：氯化鈉及Tween-20均採用試藥特級；甲醇採用液相層析級；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(濃度分別為1000、300、1000及300 ng/mL)。</p> <p>2.3. 器具及材料：</p> <p>2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。</p> <p>2.3.2. 容量瓶：2 mL、10 mL及20 mL，褐色。</p>	<p>一、適用範圍增加「果乾類、食用油脂、堅果類、油籽類、黃豆類」，並將花生及玉米分別納入堅果類及穀類。</p> <p>二、「試藥」增列對照用混合標準品使用之溶劑。</p> <p>三、「器具及材料」之針筒過濾器修正為濾膜。</p> <p>四、「檢液之調製」增列適用基質。</p> <p>五、「高效液相層析測定條件」增列「若螢光檢出器之感度可達到定量極限之要求，則可不使用光化學反應器」之說明。</p> <p>六、配合衛生標準規定修正黃麴毒素含</p>

<p>20 mL，褐色。</p> <p>2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm，Nylon材質。</p> <p>2.3.4. 濾紙：Whatman No.1，直徑11 cm，或同級品。</p> <p>2.3.5. 玻璃纖維濾紙 (Glass microfibre filters)：直徑9 cm。</p> <p>2.3.6. 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。</p> <p>2.3.7. 濾膜：孔徑0.22 μm，PTFE材質。</p> <p>2.4. 試劑之調製：</p> <p>2.4.1. 50% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 50：50 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.2. 60% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 60：40 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.3. 80% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 80：20 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.4. 10% Tween-20溶液： 取Tween-20與去離子水以10：90 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.5. 移動相溶液之調製： 取甲醇與去離子水以45：55 (v/v)之比例混勻後，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。</p> <p>2.6. 標準溶液之配製： 精確量取黃麴毒素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，<u>冷藏儲存</u>。臨用時取適量標準原液，以50% 甲醇溶液稀釋至黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub> 0.1~50 ng/mL，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub> 0.05~15 ng/mL，供作標準溶液。</p> <p>2.7. 檢液之調製：</p> <p>2.7.1. 穀類、果乾類及其製品：</p>	<p>2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm，Nylon材質。</p> <p>2.3.4. 濾紙：Whatman No.1，直徑11 cm，或同級品。</p> <p>2.3.5. 玻璃纖維濾紙 (Glass microfibre filters)：直徑9 cm。</p> <p>2.3.6. 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。</p> <p>2.3.7. <u>針筒過濾器 (Syringe filter)</u>：濾膜孔徑0.22 μm，PTFE材質。</p> <p>2.4. 試劑之調製：</p> <p>2.4.1. 50% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 50：50 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.2. 60% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 60：40 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.3. 80% 甲醇溶液： 取甲醇與去離子水以 80：20 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.4.4. 10% Tween-20溶液： 取Tween-20與去離子水以10：90 (v/v)之比例混勻。</p> <p>2.5. 移動相溶液之調製： 取甲醇與去離子水以45：55 (v/v)之比例混勻後，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。</p> <p>2.6. 標準溶液之配製： 精確量取黃麴毒素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。臨用時取適量標準原液，以50% 甲醇溶液稀釋黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub>至0.1~50 ng/mL，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub>至0.05~15 ng/mL，供作標準溶液。</p> <p>2.7. 檢液之調製：</p> <p>2.7.1. <u>玉米、穀類及其製品</u>：</p>	<p>量及定量極限之單位。</p> <p>七、增列近期之參考文獻。</p> <p>八、增修訂部分文字。</p>
--	---	---

將檢體磨碎混勻後，取約50 g，精確稱定，置於均質機中，加入氯化鈉5 g及80% 甲醇溶液100 mL，以15000 rpm均質2分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加去離子水40 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，棄流出液，每次以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒)，必要時輔以抽真空。俟管柱內去離子水排淨後，再以甲醇1 mL沖提排淨(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以去離子水定容至2 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

#### 2.7.2. 食用油脂、堅果類、油籽類、黃豆類及其製品：

將油脂等液態檢體混勻，其他檢體經磨碎混勻後，取約25 g，精確稱定，置於均質機中，加入氯化鈉5 g及60% 甲醇溶液125 mL，以15000 rpm均質2分鐘後，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加去離子水30 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液20 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，棄流出液，每次以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒)，必要時輔以抽真空。俟管柱內去離子水排淨後，再以甲醇1 mL沖提排淨(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以去離子水定容至2 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

#### 2.7.3. 香辛料：

將檢體磨碎混勻後，取約25 g，精確稱定，置於均質機中，加入氯化鈉5 g及80% 甲醇溶液100 mL，以15000 rpm均質2分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液5 mL，加10% Tween-20溶液20 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液4 mL，注入

將檢體磨碎混勻後，取約50 g，精確稱定，置於均質機中，加入氯化鈉5 g及80% 甲醇溶液100 mL，以15000 rpm均質2分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加去離子水40 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，待濾液完全通過管柱後，以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒)，棄流出液，再以甲醇1 mL沖提(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以去離子水定容至2 mL，經針筒過濾器過濾，供作檢液。

#### 2.7.2. 油脂、花生及其製品：

將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，加入氯化鈉5 g及60% 甲醇溶液125 mL，以15000 rpm均質2分鐘後，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加去離子水30 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液20 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，待濾液完全通過管柱後，以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒)，棄流出液，再以甲醇1 mL沖提(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以去離子水定容至2 mL，經針筒過濾器過濾，供作檢液。

#### 2.7.3. 香辛料：

將檢體磨碎混勻後，取約25 g，精確稱定，置於均質機中，加入氯化鈉5 g及80% 甲醇溶液100 mL，以15000 rpm均質2分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液5 mL，加10% Tween-20溶液20 mL混勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液4 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/

免疫親和管柱(流速控制1滴/秒),棄流出液,每次以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒),必要時輔以抽真空。俟管柱內去離子水排淨後,再以甲醇1 mL沖提排淨(流速控制1滴/秒),收集沖提液,以去離子水定容至2 mL,經濾膜過濾,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,依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各黃麴毒素之含量(μg/kg):

$$\text{檢體中各黃麴毒素含量}(\mu\text{g/kg}) = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C: 由標準曲線求得檢液中各黃麴毒素之濃度(ng/mL)

V: 檢體最後定容之體積(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

依2.7.3.節取樣分析時, F為125

M: 取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件<sup>(註1)</sup>:

層析管: Cosmosil 5C18-AR, 5 μm, 內徑4.6 mm × 25 cm。

光化學反應器<sup>(註2)</sup>: Knitted Reactor Coils (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。

註: 1. 上述測定條件分析不適時, 依所使用之儀器, 設定適合之測定條件。

2. 若螢光檢出器之感度可達到定量極限之要求, 則可不使用光化學反應器。

附註:

秒), 待濾液完全通過管柱後, 以去離子水10 mL流洗2次(流速控制1滴/秒), 棄流出液, 再以甲醇1 mL沖提(流速控制1滴/秒), 收集沖提液, 以去離子水定容至2 mL, 經針筒過濾器過濾, 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, 依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各黃麴毒素之含量(ppb):

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

C: 由標準曲線求得檢液中各黃麴毒素之濃度(ng/mL)

V: 檢體最後定容之體積(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

依2.7.3.節取樣分析時, F為125

M: 取樣分析檢體之重量(g)

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。

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。

1. 本檢驗方法之定量極限，於穀類、果乾類、食用油脂、堅果類、油籽類、黃豆類及其製品中，黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub>均為0.2 µg/kg，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub>均為0.1 µg/kg；於香辛料中，黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub>均為1.0 µg/kg，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub>均為0.5 µg/kg。
2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
3. 以液相層析串聯質譜儀(LC-MS/MS)進行確認時，其多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式參數<sup>(註)</sup>如下表。

分析物	離子化模式	離子對	去集簇電壓(V)	碰撞電壓(eV)
		前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
黃麴毒素 B <sub>1</sub>	ESI <sup>+</sup>	313>241*	48	36
		313>285	48	22
黃麴毒素 B <sub>2</sub>	ESI <sup>+</sup>	315>259*	46	28
		315>287	46	26
黃麴毒素 G <sub>1</sub>	ESI <sup>+</sup>	329>200*	46	42
		329>243	46	26
黃麴毒素 G <sub>2</sub>	ESI <sup>+</sup>	331>189*	48	42
		331>313	48	24

\*定量離子對

註：上述測定參數分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之參數。

參考文獻

1. Vicam LP. 1999. Aflatest® HPLC instruction manual. Milford, MA, USA.
2. 卓憲駿、陳映君、廖家鼎、曾素香、高雅敏、周秀冠、陳惠芳。2014。香辛料中黃麴毒素之檢驗方法開發及調查。衛生福利部食品藥物管理署103年度研究成果報告。
3. 吳淑憶、丘如茵、喻敏甄、羅可涵、張采屏、陳蓉萱、施偉

附註：

1. 本檢驗方法之定量極限，於油脂、花生、玉米、穀類及其製品中，黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub>均為0.2 ppb，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub>均為0.1 ppb；於香辛料中，黃麴毒素B<sub>1</sub>及G<sub>1</sub>均為1 ppb，黃麴毒素B<sub>2</sub>及G<sub>2</sub>均為0.5 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
3. 以液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)進行確認時，其LC/MS/MS之多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)模式參考參數如下表。

分析物	離子化模式	離子對	去集簇電壓(V)	碰撞電壓(eV)
		前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
黃麴毒素 B <sub>1</sub>	ESI <sup>+</sup>	313>241*	48	36
		313>285	48	22
黃麴毒素 B <sub>2</sub>	ESI <sup>+</sup>	315>259*	46	28
		315>287	46	26
黃麴毒素 G <sub>1</sub>	ESI <sup>+</sup>	329>200*	46	42
		329>243	46	26
黃麴毒素 G <sub>2</sub>	ESI <sup>+</sup>	331>189*	48	42
		331>313	48	24

\*定量離子對

註：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

參考文獻

1. Vicam, Aflatest® HPLC instruction manual. Milford, MA, USA.
2. 卓憲駿、陳映君、廖家鼎、曾素香、高雅敏、周秀冠、陳惠芳。2014。香辛料中黃麴毒素之檢驗方法開發及調查。衛生福利部食品藥物管理署103年度研究成果報告。

仲。2019。天然毒素及汙染物檢  
驗方法開發。衛生福利部食品藥  
物管理署108年度委外研究成果  
報告。