

食品中黴菌毒素檢驗方法－乳製品中黃麴毒素 M₁ 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－乳製品中黃麴毒素 M₁ 之檢驗」修正草案，名稱並修正為「食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素 M₁ 之檢驗」，其修正要點如下：

- 一、修正中英文名稱。
- 二、「適用範圍」及「檢液之調製」增加「嬰幼兒配方食品」，另刪除無衛生標準之「醃酵乳」。
- 三、「試藥」增列對照用標準品之濃度。
- 四、「標準溶液之配製」刪除標準原液配製步驟。
- 五、配合衛生標準規定修正黃麴毒素 M₁ 含量及定量極限之單位。
- 六、附註下修液狀乳及粉狀乳之定量極限，並增列嬰幼兒配方食品之定量極限，另刪除醃酵乳部分。
- 七、增列近期之參考文獻。
- 八、增修訂部分文字。

食品中黴菌毒素檢驗方法－乳製品中黃麴毒素M₁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M ₁ 之檢驗 Method of Test for Mycotoxin in Foods - Test of Aflatoxin M ₁	食品中黴菌毒素檢驗方法－ <u>乳製品中黃麴毒素M₁之檢驗</u> Method of Test for Mycotoxin in Foods - Test of Aflatoxin M ₁ <u>in Dairy Products</u>	修正中英文名稱。
修正規定	現行規定	說明
1. 適用範圍：本檢驗方法適用於液狀乳、粉狀乳及<u>嬰幼兒配方食品</u>中黃麴毒素M₁ (aflatoxin M₁)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. 氮氣濃縮裝置(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：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M₁對照用標準品(0.5 µg/mL in acetonitrile)。 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。	1. 適用範圍：本檢驗方法適用於液狀乳、粉狀乳及<u>發酵乳</u>中黃麴毒素M₁ (aflatoxin M₁)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：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M₁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。	一、「適用範圍」及「檢液之調製」增加「嬰幼兒配方食品」，另刪除無衛生標準之「發酵乳」。 二、「試藥」增列對照用標準品之濃度。 三、「標準溶液之配製」刪除標準原液配製步驟。 四、配合衛生標準規定修正黃麴毒素M₁含量及定量極限之單位。 五、附註下修液狀乳及粉狀乳之定量極限，並增列嬰幼兒配方食品之定量極限，另刪除發酵乳部分。 六、增列近期之參考文獻。 七、增修訂部分文字。

2.3.3. 免疫親和性管柱 (Immunoaffinity column)：採用內含對黃麴毒素M₁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M₁對照用標準品，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℃，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，<u>取下層</u>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℃，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，<u>取下層</u>供淨化用。 <u>2.6.1.3. 嬰幼兒配方食品：</u> <u>依產品標示之比例調配檢體。將檢體混勻，取約50 g，精確稱定，於4℃，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，取下層供淨化用。</u> 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(<u>流速控制1滴/秒</u>)，棄流出液，以少量去離子水清洗離心管，洗液一併注入管柱，<u>每次</u>以去離子水10 mL流洗管柱2次(<u>流速控制1滴/秒</u>)，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(<u>流速控制1滴/秒</u>)，收集沖提液，	2.3.3. 免疫親和性管柱 (Immunoaffinity column)：採用內含對黃麴毒素M₁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M₁對照用標準品，以乙腈稀釋至1 μg/mL，作為標準原液，<u>冷凍貯存。臨用時取適當標準原液</u>，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℃，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℃，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，供淨化用。 <u>2.6.1.3. 醱酵乳：</u> <u>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。</u> 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，<u>流速為每秒1滴</u>，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，<u>流速為每秒1滴</u>，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，<u>流速</u>	
--	---	--

於50°C以氮氣吹乾，殘留物以移動相溶液溶解並定容至<u>1 mL</u>，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M₁之含量(µg/kg)： 檢體中黃麴毒素M₁含量(µg/kg) $= \frac{C \times V}{M}$ C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素M₁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) <u>高效液相層析測定條件^(註)：</u> <u>螢光檢出器：激發波長365 nm，發射波長435 nm。</u> 層析管：RP-18，5 µm，內徑4.6 mm × 25 cm。 注入量：100 µL。 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，於液狀乳及嬰幼兒配方食品均為<u>0.005 µg/kg</u>，於粉狀乳為<u>0.05 µg/kg</u>。 2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。 參考文獻： 1. 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:	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<u>2 mL</u>，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M₁之含量(ppb)： 檢體中黃麴毒素M₁含量(ppb) = $\frac{C \times V}{M}$ C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素M₁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) <u>高效液相層析測定條件^(註)：</u> 層析管柱：RP-18，5 µm，內徑4.6 mm × 25 cm。 <u>螢光檢出器：激發波長365 nm，發射波長435 nm。</u> 注入量：100 µL。 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<u>0.01 ppb</u>，粉狀乳為<u>0.1 ppb</u>，發酵乳為<u>0.05 ppb</u>。 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.	
---	---	--

156-162. <u>2. 吳淑懌、丘如茵、喻敏甄、羅可涵、張采屏、陳蓉萱、施偉仲。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。</u>		
---	--	--