

食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素M₁之檢驗

Method of Test for Mycotoxin in Foods - Test of Aflatoxin M₁

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於液狀乳、粉狀乳及嬰幼兒配方食品中黃麴毒素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：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。
 - 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°C，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，取下層供淨化用。

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，取下層供淨化用。

2.6.1.3. 嬰幼兒配方食品：

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°C，以2500 ×g離心15分鐘，去除上層脂肪層，取下層供淨化用。

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(流速控制1滴/秒)，棄流出液，以少量去離子水清洗離心管，洗液一併注入管柱，每次以去離子水10 mL流洗管柱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，以乙腈4 mL沖提(流速控制1滴/秒)，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1 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M₁之含量(μg/kg)：

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

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)

高效液相層析測定條件^(註)：

螢光檢出器：激發波長365 nm，發射波長435 nm。

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0.005 μg/kg，於粉狀乳為0.05 μg/kg。
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: 156-162.
2. 吳淑慇、丘如茵、喻敏甄、羅可涵、張采屏、陳蓉萱、施偉仲。2019。天然毒素及污染物檢驗方法開發。衛生福利部食品藥物管理署108年度委外研究成果報告。