

### 嬰幼兒食品中黃麴毒素 B<sub>1</sub> 之檢驗方法

#### Method of Test for Aflatoxin B<sub>1</sub> in Foods for Infant and Young Child

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於嬰幼兒穀物類輔助食品、嬰幼兒副食品及特殊醫療用途嬰兒配方食品中黃麴毒素B<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：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. 離心機(Centrifuge)：轉速可達2000 ×g以上者。
    - 2.1.4. 粉碎機(Grinder)。
    - 2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
    - 2.1.6. 真空冷凍乾燥裝置：溫度可達-40°C以下，真空度可達133 mBar以下，供檢體乾燥用。
    - 2.1.7. 烘箱(Oven)：附有自動溫度調節器，溫差在± 2°C以內者。
    - 2.1.8. 乾燥器(Desiccator)。
  - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析級；氯化鈉採用試藥特級；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>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、10 mL及25 mL。
    - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm，PTFE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(Glass microfiber filters)：直徑9 cm。
    - 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。

2.3.7. 稱量瓶：附瓶蓋。

2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 50%甲醇溶液

取甲醇與去離子水以1：1 (v/v)之比例混勻。

2.4.2. 80%甲醇溶液

取甲醇與去離子水以8：2 (v/v)之比例混勻。

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。

2.6. 標準溶液之配製：

取黃麴毒素B<sub>1</sub>對照用標準品約1 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時取適量標準原液，以50%甲醇溶液稀釋至0.05~25 ng/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 嬰幼兒穀物類輔助食品：

將檢體冷凍乾燥使其水分含量小於10%，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，混合均勻，加入80%甲醇溶液125 mL，以15000 rpm均質2分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加入去離子水40 mL，混合均勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液25 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，棄流出液，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沖提排淨(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以氮氣吹乾，殘留物以50%甲醇溶液溶解並定容至1 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7.2. 嬰幼兒副食品：

將檢體冷凍乾燥使其水分含量小於10%，經磨碎混勻後，取約2.5 g，精確稱定，置於離心管中，加入氯化鈉2.5 g，混合均勻，加入80%甲醇溶液20 mL，振盪2分鐘，以2000×g離心3分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加入去離子水40 mL，混合均勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液40 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，棄流出液，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

沖提排淨(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以氮氣吹乾，殘留物以50%甲醇溶液0.5 mL溶解，經濾膜過濾，供作檢液。

### 2.7.3. 特殊醫療用途嬰兒配方食品：

依標籤指示之比例調配檢體，混勻後取約5 g，精確稱定，置於25 mL容量瓶中，以甲醇定容，移至離心管中，加入氯化鈉2.5 g，振盪2分鐘，以2000 ×g離心3分鐘，經濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，加入去離子水40 mL，混合均勻，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液25 mL，注入免疫親和管柱(流速控制1滴/秒)，棄流出液，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沖提排淨(流速控制1滴/秒)，收集沖提液，以氮氣吹乾，殘留物以50%甲醇溶液0.5 mL溶解，經濾膜過濾，供作檢液。

### 2.8. 水分之測定：

取經冷凍乾燥磨碎混勻後之嬰幼兒穀物類輔助食品及嬰幼兒副食品檢體約2 g，置於預經乾燥恆重之稱量瓶( $m_0$ )中，精確稱定( $m_1$ )，放入烘箱，於105°C加熱2小時後，將稱量瓶蓋妥，移入乾燥器中放冷，約30分鐘後稱量，再將稱量瓶移入烘箱乾燥1小時，依上述稱量步驟，直至恆重( $m_2$ )為止，並依下列公式計算檢體之水分含量(%)：

$$\text{檢體之水分含量(\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

$m_0$ ：含蓋稱量瓶之重量(g)

$m_1$ ：含蓋稱量瓶及檢體取樣之重量(g)

$m_2$ ：含蓋稱量瓶及檢體烘乾至恆重後之重量(g)

### 2.9. 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，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黃麴毒素 $B_1$ 之含量( $\mu$ g/kg)：

#### 2.9.1. 嬰幼兒穀物類輔助食品及嬰幼兒副食品：

$$\text{檢體中黃麴毒素}B_1\text{含量}(\mu\text{g/kg}) = \frac{C \times V \times F}{M \times (1 - W/100)}$$

C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素 $B_1$ 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25

依2.7.2.節取樣分析時，F為2.5

M：取樣分析檢體之重量(g)

W：檢體之水分含量(%)

### 2.9.2. 特殊醫療用途嬰兒配方食品：

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

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

V：檢體最後定容之體積(mL)

F：依2.7.3.節取樣分析時，F為5

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件<sup>(註)</sup>：

螢光檢出器：激發波長360 nm，發射波長440 nm。

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

光化學反應器：Knitted Reactor Coils (KRC) 25-25。

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：1. 本檢驗方法之定量極限，於嬰幼兒穀物類輔助食品為0.05 μg/kg，於嬰幼兒副食品及特殊醫療用途嬰兒配方食品為0.025 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 能量 (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

\*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. AOAC. 2004. Aflatoxin B<sub>1</sub> in baby foods. AOAC Official Method 2000. 16.
2. 吳淑憶、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 年度委外計畫研究成果報告。