

嬰兒穀物類輔助食品中黃麴毒素 B₁ 之檢驗方法(草案)
Method of Test for Aflatoxin B₁ in Cereal-based Foods for Infants

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於嬰兒穀物類輔助食品中黃麴毒素 B₁ 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)：可達 15000 rpm 以上並適用有機溶劑者。
 - 2.1.3. 粉碎機(Grinder)。
 - 2.1.4. 氮氣蒸發裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.2. 試藥：氯化鈉採用試藥特級；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 B₁ 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 10 mL，褐色。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.22 μm，Nylon 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 microfibre filters)：直徑 9 cm。
 - 2.3.6. 塑膠針筒：1 mL 及 10 mL。
 - 2.3.7. 免疫親和性管柱(Immunoaffinity column)：採用內含對黃麴毒素 B₁、B₂、G₁ 及 G₂ 具專一性單株抗體之 AflaTest-P 管柱，或同級品。
 - 2.3.8. 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑 0.22 μm，PTFE 材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 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。
 - 2.4.2. 80% 甲醇溶液
取甲醇與去離子水以 80：20 (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：

精確量取黃麴毒素 B₁ 對照用標準品約 1 mg，精確稱定，以甲醇稀釋並定容至 10 mL，作為標準原液。臨用時取適量標準原液，以 50% 甲醇溶液稀釋至 0.05~25 ng/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

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 125 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 25 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，於 40°C 水浴中以氮氣濃縮至乾，再以 50% 甲醇溶液定容至 1 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黃麴毒素 B₁ 之含量(ppb)：

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

C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素 B₁ 之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

F：稀釋倍數(25)

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。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限為 0.05 ppb。

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 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 能量 (eV)
		前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)		
黃麴毒素 B ₁	ESI ⁺	313	> 241*	48	36
		313	> 285	48	22

*定量離子對

註：上述參數不適時，依所使用之儀器，設定適合之參數。

參考文獻：

AOAC. 2004. Aflatoxin B₁ in baby foods. AOAC Official Method 2000. 16.