

## 食品中黴菌毒素檢驗方法—黃麴毒素之檢驗

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於花生、玉米、其他穀類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。

2. 檢驗方法：高效液相層析法（high performance liquid chromatography, HPLC）。

### 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 粉碎機（Grinder）。

2.2 試藥：氫化鈉採用試藥特級；甲醇採用液相層析級；黃麴毒素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及G<sub>2</sub>之對照用混合標準品，濃度分別為1000 ng/mL、300 ng/mL、1000 ng/mL及300 ng/mL。

### 2.3 器具及材料：

2.3.1 離心管：50 mL，附PP材質螺旋蓋。

2.3.2 褐色容量瓶：2 mL、10 mL及20 mL。

2.3.3 濾膜：直徑47 mm，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：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。

2.3.8 針筒過濾器（Syringe filter）：直徑13 mm，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：取水與甲醇以50：50（v/v）之比例混勻。

2.4.2 60%甲醇溶液：取水與甲醇以40：60（v/v）之比例混勻。

2.4.3 80%甲醇溶液：取水與甲醇以20：80（v/v）之比例混勻。

### 2.5 移動相溶液之調製：

取水與甲醇以55：45（v/v）之比例混勻後，以濾膜過濾，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>、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。使用時再以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。

## 2.7 檢液之調製：

### 2.7.1 玉米、穀類及其製品：

取磨碎混勻之檢體約50 g，精確稱定，置於均質機中，加氯化鈉5 g，再加入80%甲醇溶液100 mL，於15000 rpm均質2分鐘後，以濾紙過濾。精確量取濾液10 mL加水40 mL混勻後，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，以每秒1滴之流速通過免疫親和性管柱，待濾液完全通過管柱後，以水10 mL沖洗2次，流速每秒1滴。待管柱內水排淨後，取甲醇1 mL，以每秒1滴之流速沖提，收集沖提液，加水混合並定容至2 mL，續以針筒過濾器過濾，取濾液供作檢液。

### 2.7.2 油脂、花生及其製品：

取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，加氯化鈉5 g，再加入60%甲醇溶液125 mL，於15000 rpm均質2分鐘後，以濾紙過濾。精確量取濾液20 mL加水20 mL混勻後，以玻璃纖維濾紙過濾。精確量取濾液10 mL，以每秒1滴之流速通過免疫親和性管柱，待濾液完全通過管柱後，以水10 mL沖洗2次，流速每秒1滴。待管柱內水排淨後，取甲醇1 mL，以每秒1滴之流速沖提，收集沖提液，加水混合並定容至2 mL，續以針筒過濾器過濾，取濾液供作檢液。

## 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，參照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之含量（ppb）：

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

C：由標準曲線求得檢液中黃麴毒素之濃度（ng/mL）

V：檢體最終定容之體積（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

M：取樣分析之檢體量（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. 本檢驗方法之檢出限量，黃麴毒素B<sub>1</sub>為0.2 ppb、黃麴毒素B<sub>2</sub>為0.1 ppb、黃麴毒素G<sub>1</sub>為0.2 ppb及黃麴毒素G<sub>2</sub>為0.1 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
  3. 以本檢驗方法檢出時，應利用LC/MS等進行確認。
  4. 黃麴毒素之檢驗可依行政院衛生署公告指定中華民國國家標準（CNS）總號4090類號N6097食品中黃麴毒素檢驗法或本檢驗方法，惟檢驗結果有爭議時，應以本檢驗方法為準。