

食品中黴菌毒素檢驗方法—乳製品中黃麴毒素 M₁ 之檢驗
Method of Test for Mycotoxin in Foods — Test of Aflatoxin M₁ in Dairy Products

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於液狀乳、粉狀乳及醱酵乳中黃麴毒素 M₁ 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：具有激發波長 365 nm 及發射波長 435 nm 之螢光檢出器 (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 2,500× g 者。

2.1.3 蒸發器(Evaporator)：具氮氣吹乾裝置。

2.1.4 酸鹼值測定儀(pH meter)。

2.1.5 超音波振動器(Ultrasonicator)。

2.2 試藥：

甲醇及乙腈採液相層析級，氫氧化鈉採試藥特級，黃麴毒素 M₁ (aflatoxin M₁) 對照用標準品(濃度為 10 μg/mL)。

2.3 器具及材料^(註)：

2.3.1 離心管(Centrifuge tube)：50 mL，附 PP 材質螺旋蓋。

2.3.2 玻璃過濾器(Glass filter holder)。

2.3.3 容量瓶(Volumetric flask)。

2.3.4 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。

2.3.5 濾膜：孔徑 0.45 μm，nylon 材質。

2.3.6 針筒過濾器(Syringe filter)：濾膜孔徑 0.45 μm，鐵弗龍材質。

註：操作黃麴毒素或含有黃麴毒素之檢液，應盡量使用褐色或不透光之器具。

2.4 試劑之調製：

2.4.1 0.1 N 氫氧化鈉溶液

稱取氫氧化鈉 0.4 g，以蒸餾水溶解至 100 mL。

2.4.2 移動相溶液：

水、乙腈及甲醇以 17：6：2 (v/v) 比例混勻後，以濾膜過濾，濾液以超音波振盪除氣 30 分鐘後供作移動相溶液。

2.5 標準溶液之配製：

精確量取黃麴毒素 M₁ 標準品 0.1 mL，以乙腈定容至 1 mL，供作標準原液。使用時再以移動相溶液稀釋至 0.01~0.5 ng/mL，供作標準溶液。

2.6 檢液之調製：

2.6.1 液狀乳：

2.6.1.1 冷藏液狀乳應回溫後再取樣。檢體充分均勻混合後，取約 100 mL 以 2500×g 離心 15 分鐘，去除上層脂肪層，取液狀乳 50 g，精確稱定。

2.6.1.2 以每秒 1 滴之流速通過免疫親和性管柱，以少量蒸餾水沖洗殘留於容器壁上之檢體，一併通入管柱。再以蒸餾水流洗管柱兩次(10 mL/次)，流速 1 滴/秒。將管柱內水分排淨後，取乙腈 4 mL 以每秒 1~2 滴流速沖提，收集沖提液。

2.6.1.3 將沖提液以氮氣吹乾，殘留物以移動相溶液溶解並定容至 2 mL，經針筒過濾器過濾，供作檢液。

2.6.2 粉狀乳：

2.6.2.1 將乳粉混勻，取約 10 g，精確稱定，以蒸餾水沖泡並定容至 100 mL。

2.6.2.2 以 2500×g 離心 15 分鐘，去除上層脂肪層後，精確量取 50 mL。續依 2.6.1.2 及 2.6.1.3 步驟調製檢液。

2.6.3 醱酵乳：

2.6.3.1 取充分混合均勻之醱酵乳約 25 g，精確稱定，以 0.1 N 氫氧化鈉溶液調整 pH 至 6.5。

2.6.3.2 續依 2.6.1.2 及 2.6.1.3 步驟調製檢液。

2.7 鑑別試驗與含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 200 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 M₁ 之含量 (ppb)：

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

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(mL)

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：RP-18，5 μm，內徑 4.6 mm × 25 cm

螢光檢出器：激發波長 365 nm，發射波長 435 nm

移動相溶液：依 2.4.2 節所調製之溶液

移動相流速：1.0 mL/min

備註：1 本檢驗方法之最低檢出限量，液狀乳為 0.002 ppb，粉狀乳為 0.02 ppb，醱酵乳為 0.005 ppb。

2 食品中若有影響檢驗結果之物質，應自行探討。