寵物食品中黃麴毒素之檢驗方法
Method of Test for Aflatoxins in Pet Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於寵物食品中黃麴毒素B_1、B_2、G_1及G_2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. 粉碎機(Grinder)。

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℃可達18 MΩ-cm以上)；黃麴毒素B_1、B_2、G_1及G_2對照用混合標準品(10 µg/ mL in ACN)。

2.3. 器具及材料：

2.3.1. 離心管：50 mL，PP材質。

2.3.2. 容量瓶：2 mL、10 mL及20 mL，褐色。

2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 µm，Nylon/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 microfibre 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_1、B_2、G_1及G_2具專一性單株抗體之AflaTest-P管柱，或同級品。

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Nylon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B_1、B_2、G_1及G_2對照用混合標準品1 mL，以 50%甲醇溶液稀釋並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時取適量標準原液，以50%甲醇溶液稀釋至黃麴毒素B_1、B_2、G_1 及G_2 0.5～25 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50 g，精確稱定，置於高速離心瓶中，加入氯化鈉5 g及80%甲醇溶液100 mL，震盪5分鐘，以6000 rpm 離心5分鐘，上清液經濾紙過濾。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10 mL注入免疫親和管柱(流速控制 1 滴/秒)，棄流出液，每次以去離子水10 mL 流洗 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，再以甲醇 1 mL 沖提排淨(流速控制 1滴/秒)，收集沖提液，以去離子水定容至2 mL，經PTFE濾膜過濾，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100 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各黃麴毒素之含量(ppm)(註1)：

$$\text{檢體中各黃麴毒素之含量(ppm)} = \frac{C \times V \times F}{M}/1000$$

C：由標準曲線求得檢液中各黃麴毒素之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

F：50

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析測定條件(註2)：

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

光化學反應器(註3)：Knitted Reactor Coils (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。

註：1. 黃麴毒素為黃麴毒素B_1、B_2、G_1及G_2之總和。

2. 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。

3. 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黃麴毒素B1、B2、G1及G2均為0.001 ppm。
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. 食品中黴菌毒素檢驗方法- 黃麴毒素之檢驗(MOHWT0001.04)。衛授食字第1091901654號公告(修正日期: 109 年9 月 2 日)。
2. VICAMLP. 1999.Aflatest®HPLC instruction manual. Milford, MA, USA.