

摘要

動物飼料遭受黃麴菌的污染，可能會導致飼料中含有黃麴毒素。當牛隻食入遭受黃麴毒素 B1 污染的飼料後，會在乳汁中產生肝毒性及致癌性極高的黃麴毒素 M1 (AFM1)。AFM1 在乳品的處理過程不易受到破壞，因此世界各國目前仍嚴格把關乳品中 AFM1 的含量。歐盟自 1999 年起，將 AFM1 在鮮乳中容許量由 0.5 $\mu\text{g/L}$ 降至 0.05 $\mu\text{g/L}$ ，對國內現有的檢測方法形成挑戰。

我國藥物食品檢驗局現階段公告鮮乳中 AFM1 的檢測方法，是利用免疫親和性管柱 (immunoaffinity column, IAC) 進行樣品的前處理，再搭配液相層析儀並以螢光偵測器檢測。本研究欲改善樣本前處理以縮短樣本前處理時間，並提升樣品偵測靈敏度而做了以下探討 (1)使用 RAM pre-column 與 Shodex column 進行樣本的前處理以縮短實驗時間 (2)分別比較 BEH HILIC 極致液相層析管柱、HSS T3 極致液相層析管柱、BEH C₁₈ 極致液相層析管柱與傳統的 C₁₈ 液相層析管柱等四種管柱搭配極致液相層析/串聯式質譜儀的分析效能。並根據偵測靈敏度、層析時間、偵測極限、基質效應，從極致液相層析管柱中選擇一支最佳者。

本研究樣本前處理結果顯示：管柱材質為 C₄ 的限制接觸材質管柱 (RAM pre-column) 無法將 AFM1 滯留於管柱內，導致 AFM1 隨鮮乳中蛋白質等大分子物質一併排除至廢液，因此 C₄ 的 RAM pre-column 不適合做為鮮乳中 AFM1 的前處理管柱；以聚合材質層析管柱 (Shodex column) 為樣本前處理與分析管柱，雖可以有效的分離大分子蛋白質與 AFM1，縮短前處理與分析時間，但 AFM1 波峰過寬 (>3 分鐘) 影響解析度。因此本研究仍然使用免疫親和性管柱作為樣本前處理的方法。

本實驗使用免疫親和性管柱進行鮮乳樣本前處理，使用 HSS T3 極致液相層析管柱搭配極致液相層析/串聯式質譜儀偵測 AFM1 的優點為：(1)基質干擾較其它極致液相層析管柱小 (63.4%)；(2)較傳統 C₁₈ 液相層析管柱可獲得較低的儀器偵測極限：0.011 ng/mL (0.11 pg)；(3)更低的粉狀乳檢出極限 2.01 ng/kg (優於

我國藥物食品檢驗局於 93 年公佈粉狀乳的檢出極限 20 ng/kg)。雖然 HSS T3 極致液相層析管柱已為所測試三支極致液相層析管柱中基質干擾較低者，但其訊號抑制 (ion suppression) 仍高達 63.4%。因此本實驗配置了 AFM1 基質添加檢量線，發現其線性結果良好， R^2 可達 0.997，且使用基質添加檢量線即可有效減低分析時樣本基質干擾的問題，可以提供更準確的樣本定量結果。另外，黃麴毒素 G1 (AFG1) 會對 AFM1 的定量子離子造成干擾，不適合作為本研究的內標。

本研究結果顯示使用極致液相層析管柱優於傳統液相層析管柱的主要特點為層析速度較快 (AFM1 於分析管柱滯留時間由 4.6 分鐘縮短為 2.6 分鐘)，較低的儀器偵測極限 (儀器偵測極限由 4.7 pg 降低至 0.11 pg) 與提升訊號雜訊比 (訊號雜訊比提高 16-58 倍)。

關鍵詞：黃麴毒素 M1，黃麴毒素 G1，免疫親和性管柱，極致液相層析/串聯式質譜儀，限制接觸材質管柱，聚合材質層析管柱，鮮乳

