



# 中藥黃麴毒素檢驗方法建立 及應注意事項



TFDA研究檢驗組食品生物檢驗科 陳映君

100.10.21



# 大 綱

---

- 黃麴毒素之簡介
- 黃麴毒素之檢驗方法
- 本局歷年來黃麴毒素之調查結果
- TFDA 審查現況與藥廠送審之注意事項

# 新聞事件

2011-07-20

許多人都會把花生拿來當下酒菜，但衛生署在19日抽驗時發現，有一批來自印尼的辣味花生豆，裡面的黃麴毒素竟然超標26倍，這也是該品牌第3次被驗出有超量的黃麴毒素，吃多了可能會得到肝癌，民眾一定要特別當心。

一顆顆渾圓飽滿，裹著橘紅色麵衣的花生豆，吃起來香香脆脆嗆辣有勁，讓人忍不住一口接一口，但是，你可能已經吃下過量的黃麴毒素了。

這款印尼進口的辣味花生豆，被衛生署檢驗出有裡頭含有389.52ppb的黃麴毒素，超標26倍，而且這也是該品牌第3次被驗出有超量的黃麴毒素，前兩次分別是在4月和6月時被驗出，這次第3次抽查竟然還是超標，但這款辣味花生豆在市面上依然買得到，連醫生都覺得很擔心。

面對著可能罹癌的風險，醫生特別作出提醒，除了花生之外，其他包括醃製品或容易發霉的食物，都可能有黃麴毒素，所以醫師提醒民眾，為了健康，盡量少吃。





- 台北捷運華捷變電所毒氣外洩案 調查推論獲支持  
國際權威期刊：極可能光氣毒災
- 高鐵又出軌 行控中心凸槌
- 收費員工程師上下班 騎機車走國道
- 遠航空中接近 排除亂流因素
- 藥價黑洞案 檢方追追追／健保局任憑藥價被墊高
- 文宣當垃圾 健保局字打嘴巴
- 境外移入 曲弓熱首例現蹤
- 中藥黃麴毒素 超標要罰**
- 邵曉鈴 持續好轉
- 青少年文庫 多元呈現台灣史
- 921地震研究 上Nature期刊
- 杜正勝：民國一百年 教官退出大學
- 青輔會被質疑亂花錢
- 照片血淋淋 社團抗議腥蘋果



## 中藥黃麴毒素 超標要罰

### 最重罰三十萬元

〔記者胡清暉／台北報導〕保存不當的中藥材可能含有致癌的黃麴毒素！衛生署中醫藥委員會首度公告中藥材的黃麴毒素限量標準，第一波針對紅棗、黃耆等十四種較易長霉的中藥材，含量不得超過十五ppb（十億分之一），違者可依藥事法處六萬元以上卅萬元以下罰鍰。

黃麴毒素（aflatoxins）是多種密切相關的黴菌（主要是黃麴黴菌）產生的二次性有毒代謝物，最喜愛孳生在花生、米、玉米、豆類、麥類等高碳水化合物農作物上，以及部分含水、含糖量較高的中藥材。

黃麴毒素耐高溫，含黃麴毒素的食物或中藥材，即使經高溫煮熟，仍無法殺菌，一旦誤食了大量被黃麴毒素污染的食物，輕者可能會嘔吐、腹痛，嚴重者可能導致急性肝中毒，甚至死亡。

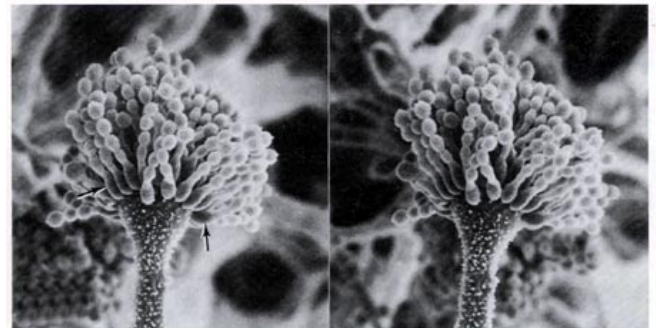
衛生署中醫藥委員會主委林宜信指出，黃麴毒素經常是肝癌、胃癌的禍源，衛生署決定明訂中藥材的黃麴毒素限量，未來持續進行抽檢，並逐步增列其他中藥材。

### 中藥發霉就有毒

林宜信強調，衛生署會加強規範進口中藥材的包裝，避免運送過程中遭到污染，同時加強中藥材的標示。他並建議，中藥材應儘量存放在低溫、乾燥處，一旦發現藥材發霉，應立即丟棄。

# 黃麴毒素(aflatoxin)

- 一群構造類似之黴菌次級代謝物，由 *Aspergillus* 及 *Penicillium* 屬產生，以 *Aspergillus flavus* (黃麴菌) 和 *Aspergillus parasiticus* (寄生麴菌) 為主
- 1960年“Turkey X disease”造成英國十多萬隻火雞死亡事件，後續研究發現是由巴西進口飼料中黃麴毒素所引起



# 遭受黃麴毒素污染之玉米

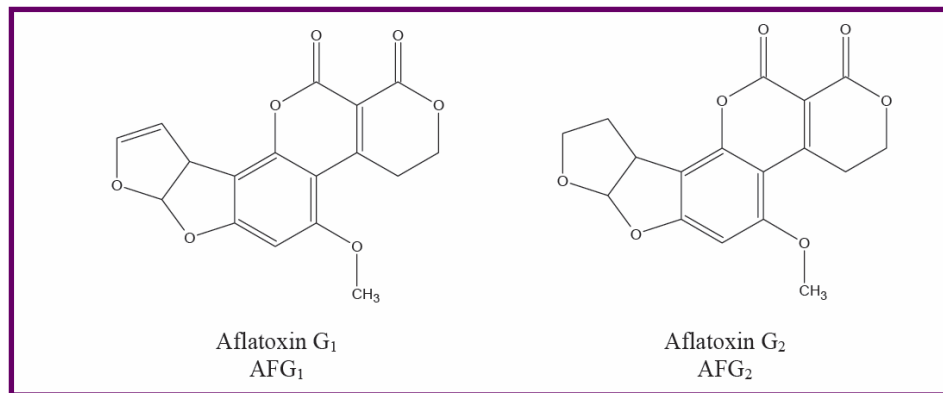
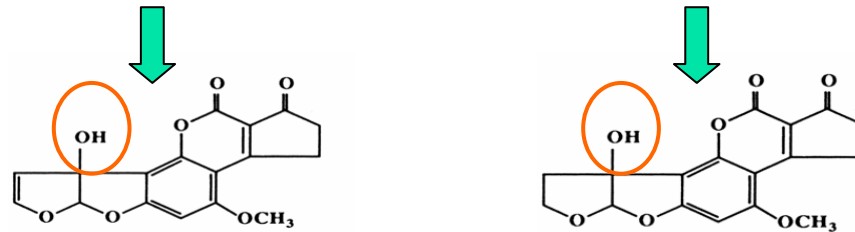
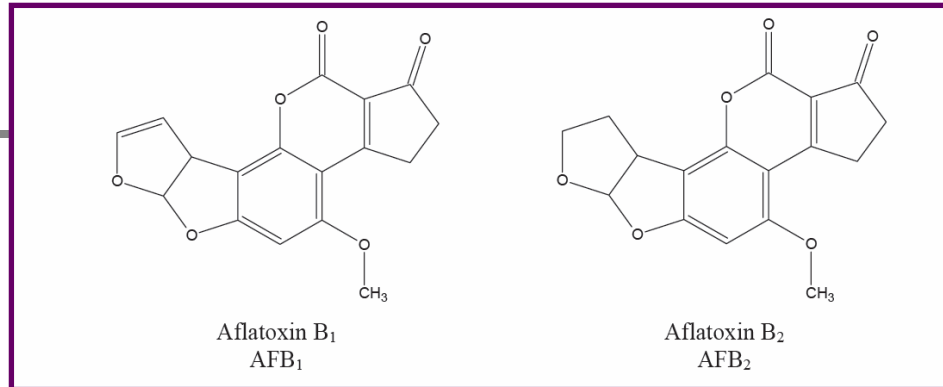


(<http://www.ncga.com>, <http://aes.missouri.edu> )

# 黃麴毒素之常見種類及其化學結構

總黃麴毒素包括Aflatoxin  
B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>之總和

經哺乳類動物代謝後會  
產生黃麴毒素M<sub>1</sub>與M<sub>2</sub>





# 產生黃麴毒素之條件

- 將黃麴菌接種於培養基中觀察生長及產毒情形，發現最適生長溫度為 $33\sim 35^{\circ}\text{C}$ 、水活性( $a_w$ )為0.99；毒素則在 $24\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、水活性0.93~0.98下易生成。
- 台灣地處亞熱帶，**高溫高濕**環境有利黃麴菌繁殖，隨風或昆蟲散播，落於土壤中污染農作物。
- 採收、運送、貯存、加工、銷售等過程，若環境過於高溫潮濕，皆有可能產生。
- 無色無味，耐高溫。



# 黃麴毒素之毒性

- 動物試驗中，黃麴毒素造成生長遲緩、生殖力下降等症狀。半數致死劑量LD<sub>50</sub>為0.5~10 mg/kg BW。
- 乳牛吃了含黃麴毒素B<sub>1</sub>之飼料，其分泌之乳汁可能含有黃麴毒素M<sub>1</sub>。
- 污染之農作物 → 家禽(畜) → 人





# 黃麴毒素之毒性

- 黃麴毒素 B<sub>1</sub> 經代謝為毒性極強之黃麴毒素 2,3-epoxide，再與核酸和蛋白質結合，並干擾 DNA 的轉錄、轉譯過程。可導致突變、致畸胎與致癌性。
- 主要的症狀：嘔吐、腹痛、肺水腫、痙攣、昏迷、免疫力下降、慢性肝炎、猛爆性肝炎、肝癌。有流行病學研究指出，受到黃麴毒素污染嚴重的地區，人們通常有較高的肝癌發生率。
- WHO 所屬之國際癌症研究中心已於 1987 年確認黃麴毒素為一級致癌物。目前尚未訂每日容許攝取量。

# 黃麴毒素之相對致癌性

黃麴毒素	相對致癌性
B <sub>1</sub>	100
M <sub>1</sub>	3
G <sub>1</sub>	3
B <sub>2</sub>	0.2
G <sub>2</sub>	0.1

毒性：B<sub>1</sub> > M<sub>1</sub> = G<sub>1</sub> > B<sub>2</sub> > G<sub>2</sub>



# 常見遭受黃麴毒素污染之食材

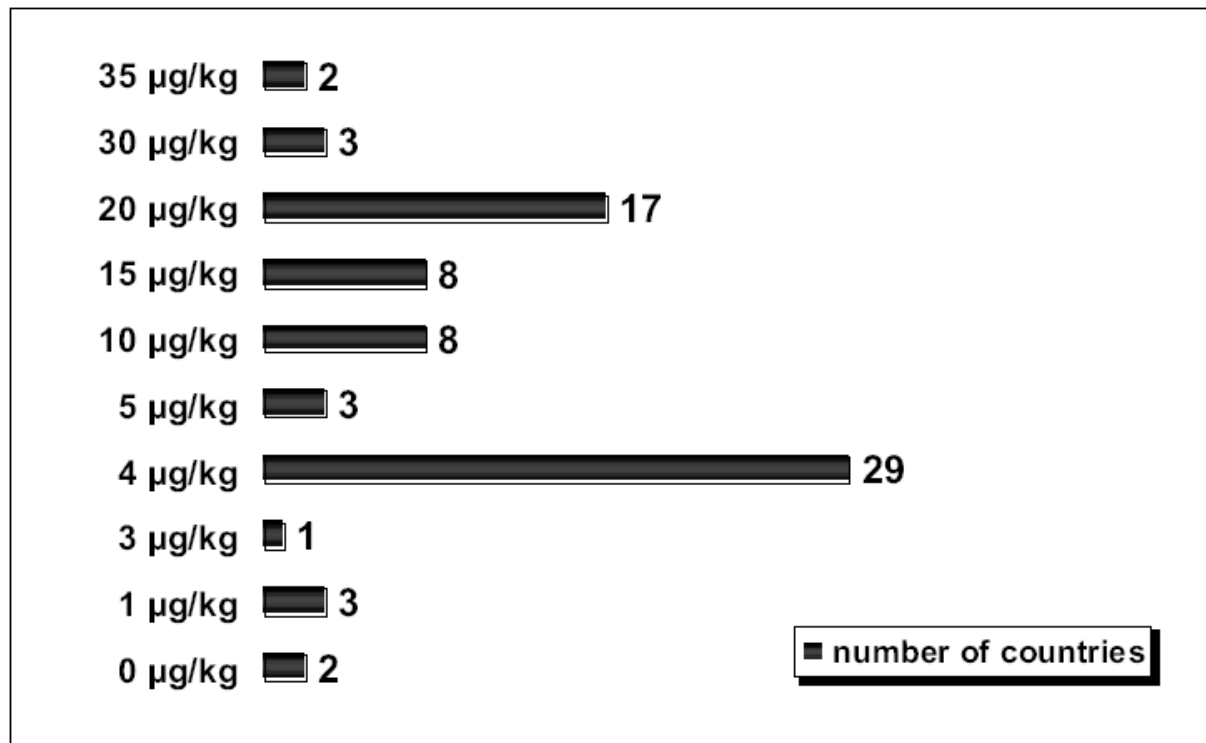
- 穀類：玉米、高粱、小麥、稻米
- 種子：花生、葵花籽、棉花籽
- 香料：辣椒、黑胡椒、芫荽、薑黃
- 堅果：杏仁、開心果、胡桃
- 乳品：鮮乳、乳粉
- 其他：長徽之中藥材

# 食品中黃麴毒素限量標準

## 82.1.4.衛署食字第8189322號公告

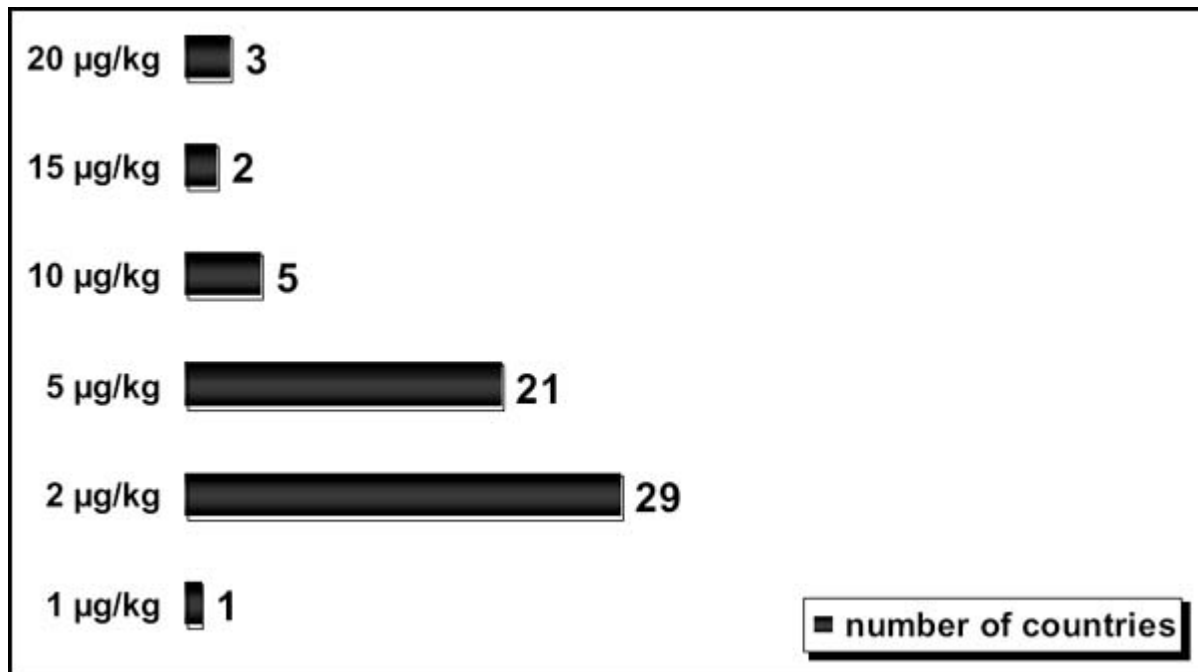
食品種類	總黃麴毒素限量（包括Aflatoxin B <sub>1</sub> ， B <sub>2</sub> ，G <sub>1</sub> ，G <sub>2</sub> ）
花生、玉米	15 ppb 以下
米、高粱、豆類、麥類 及堅果類	10 ppb 以下
食用油脂	10 ppb 以下
其他食品	10 ppb 以下
嬰兒食品	不得檢出
鮮乳	0.5 ppb以下（以M <sub>1</sub> 計）
乳粉	5.0 ppb以下（以M <sub>1</sub> 計）

# 全球制定食品中總黃麴毒素 限量標準之國家數目



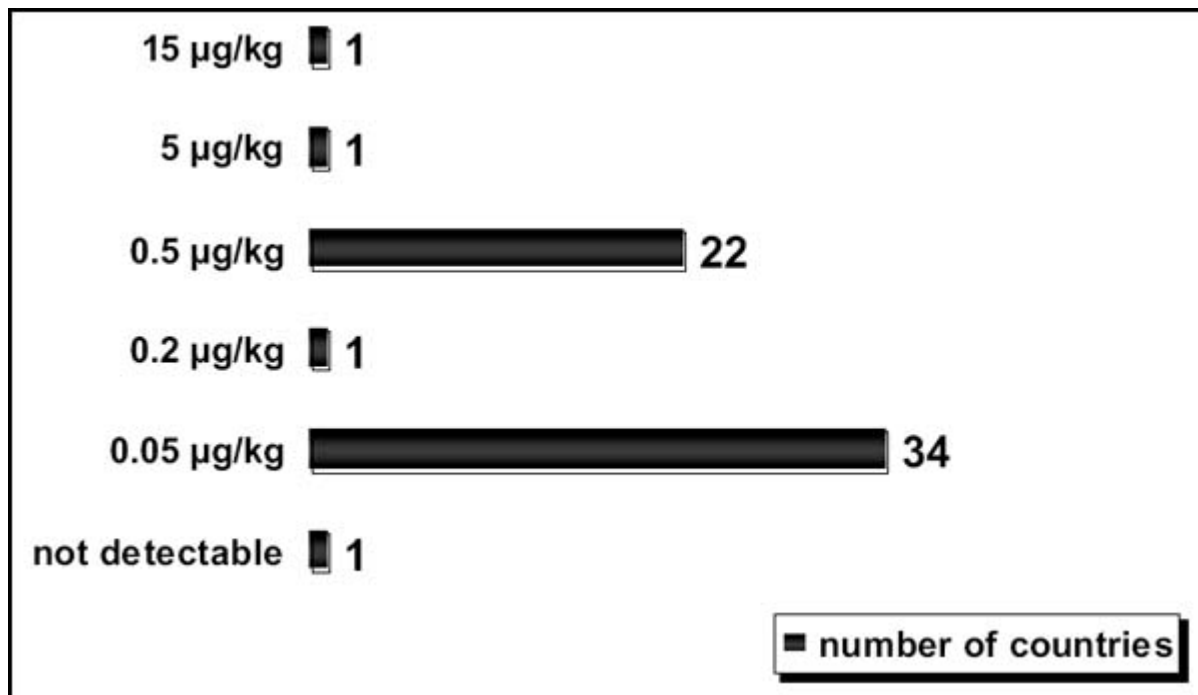
(FAO, 2003)

# 全球制定食品中黃麴毒素B<sub>1</sub> 限量標準之國家數目



(FAO, 2003)

# 全球制定牛奶中黃麴毒素M<sub>1</sub> 限量標準之國家數目



(FAO, 2003)





# 主要國家訂定食品中黃麴毒素 之限量標準

	總黃麴毒素 (ppb)	黃麴毒素B1 (ppb)
美國	20	
歐盟	4	2
日本	10	
中國	20	5

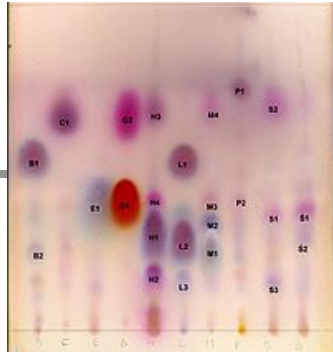
## 中藥材中黃麴毒素限量標準(95.11)

有害物質	限量	適用範圍
黃麴毒素 (Aflatoxin)	15 ppb	八角茴香、紅棗、大腹皮、女貞子、山楂、山茱萸、枸杞子、胡椒、麴類、小茴香、延胡索、橘皮、黃耆、蓮子 (共14品項)

# 黃麴毒素分析檢驗工具



ELISA Kit (免疫酵素連結法)



TLC (薄層層析)



螢光判讀機



HPLC (高效液相層析)



LC/MS/MS (液相層析串聯質譜)



# 黃麴毒素檢驗方法

---

- 酵素聯結免疫分析法  
(Enzyme Linked Immunosorbent Assay,  
ELISA)
- 化學分析法

# ELISA原理

- Mycotoxin-enzyme conjugate
- Mycotoxin
- Y Anti-mycotoxin antibody
- S Substrate

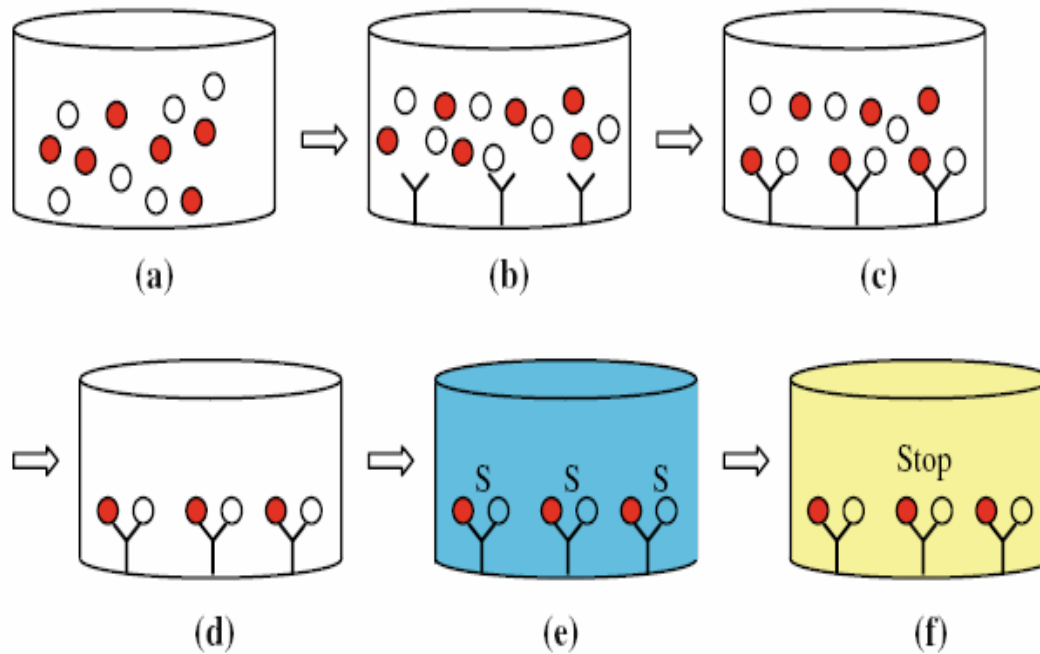
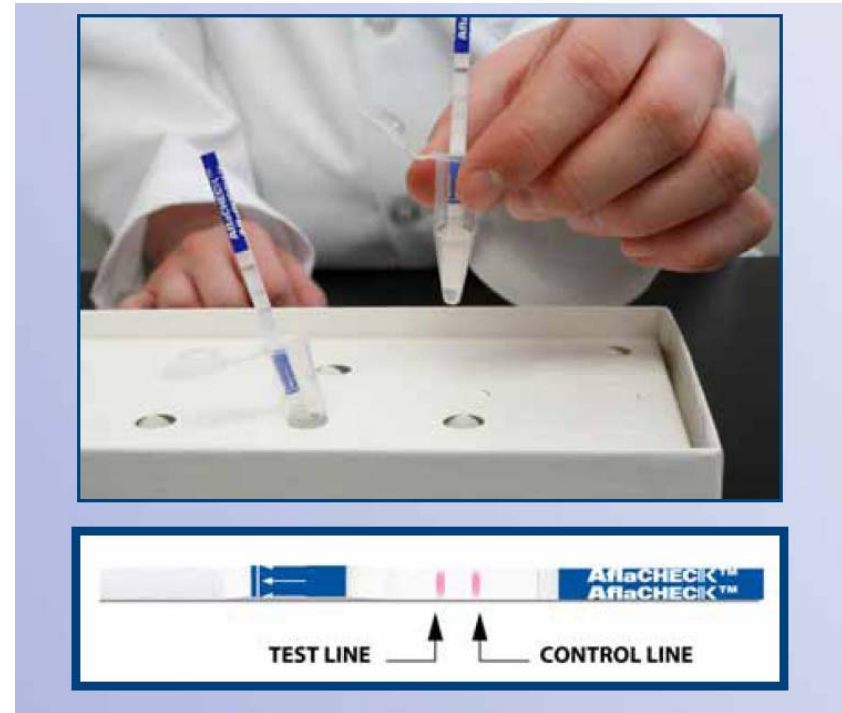


Figure 1. Principle of competitive ELISA for mycotoxin analysis. (a) Sample mixed with conjugate; (b) mixed content added to antibody coated well; (c) mycotoxin binds to antibody in the 1st incubation; (d) unbound materials are rinsed away in the washing step; (e) substrate is added to develop color; (f) stop solution is added to stop the reaction.

# 免疫酵素聯結反應

- 使用對黃麴毒素具專一性之抗體
- 操作簡單，價格低廉，可作為篩選工具(screening)
- 過去產品需搭配Elisa Reader，測定固定波長下之吸光值，比對標準曲線後定量黃麴毒素濃度。新產品(快速檢測試紙)僅需3分鐘即可得知是否大於10 ppb / 20 ppb



(www.vicam.com)

# 化學分析法

---

取樣(Sampling)



萃取



淨化



定性及定量分析



# 取樣之概念

---

- 同一批樣品區分為幾個小區域
- 在各小區域取一定量之樣品
- 將不同單點所取樣品混合成「批取樣品」
- 批取樣品分樣送至檢驗室
- 檢驗室樣品先予細切、磨粉並混勻
- 再分為檢驗用樣品及儲存樣品





# 萃取與淨化

---

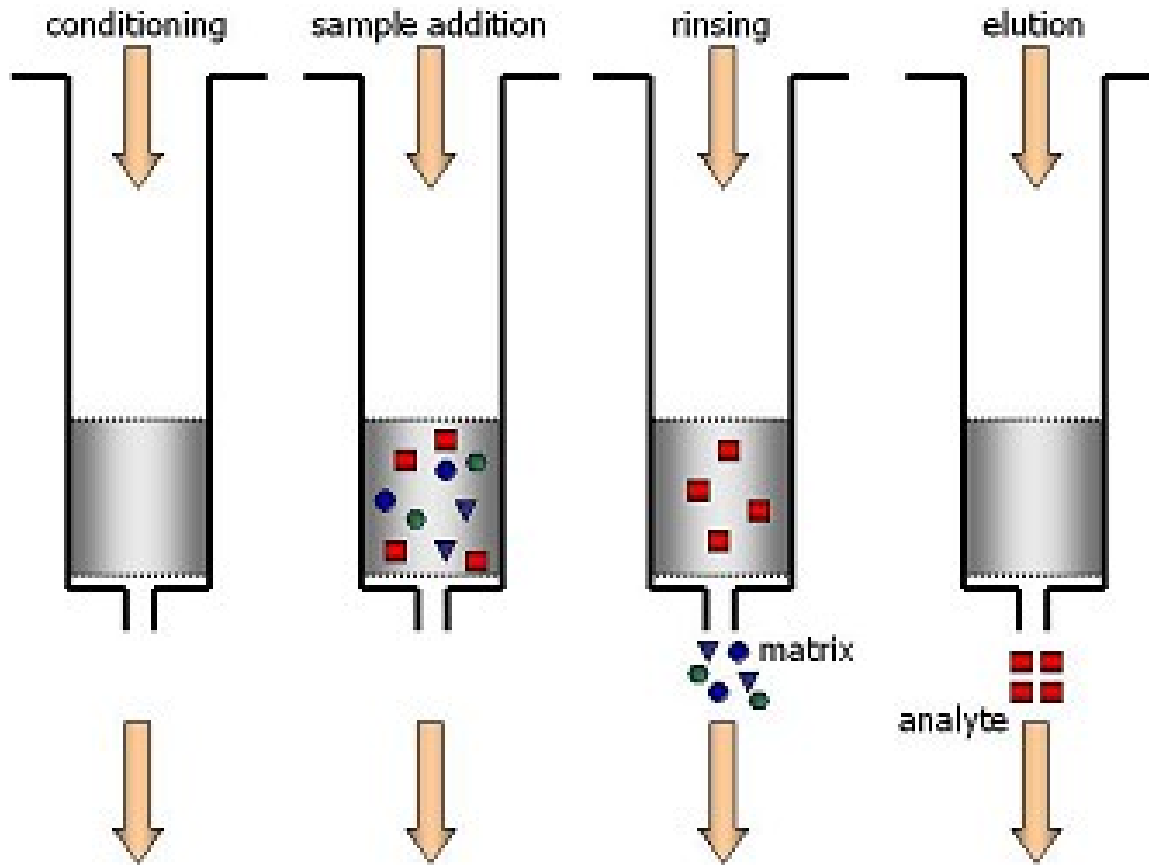
## ➤ 萃取 (Extraction)

- 以甲醇/水混合液萃取

## ➤ 淨化(Clean up) :

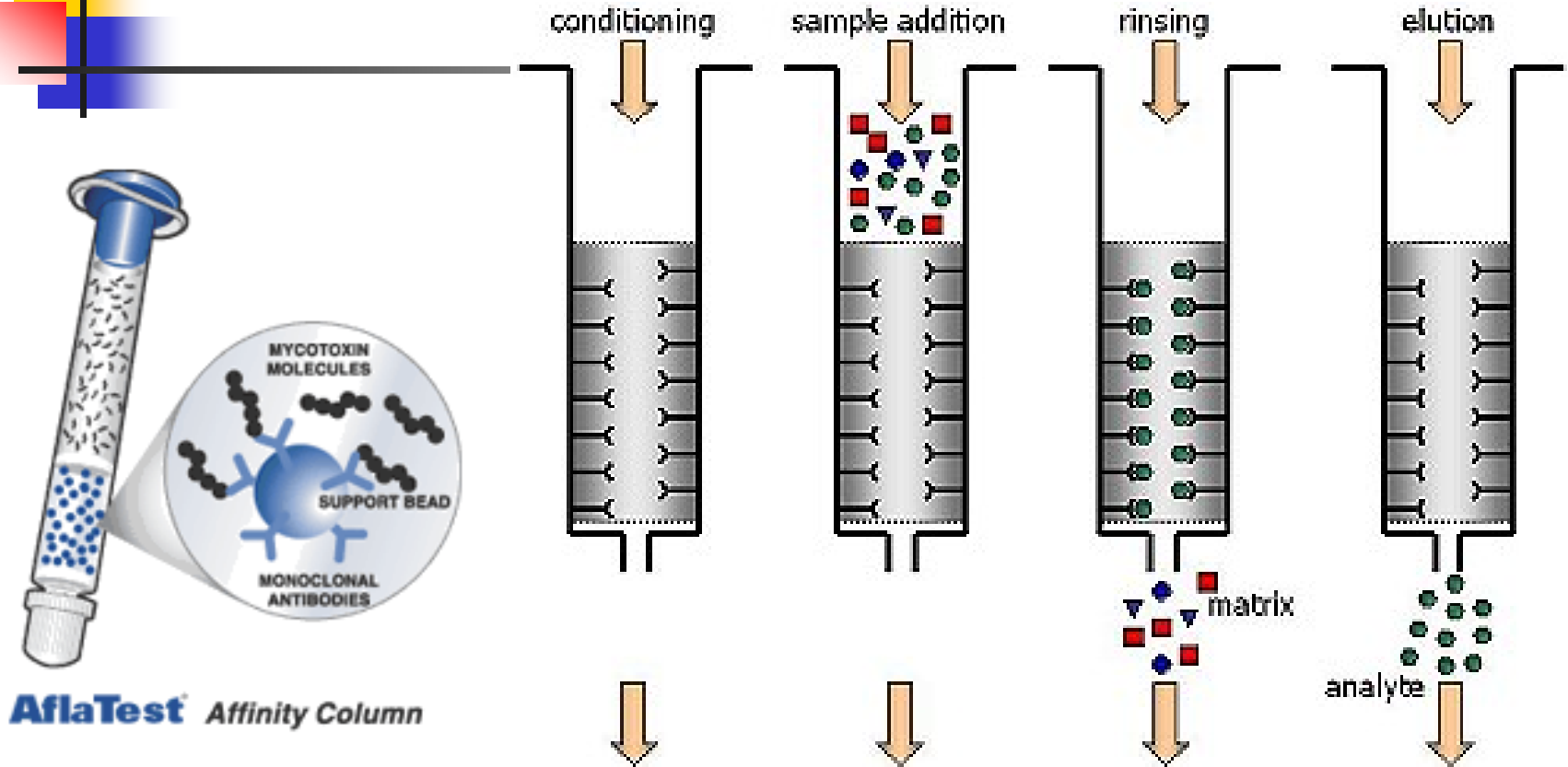
- 固相萃取(Soild-phase extraction, SPE)
- 免疫親和性管柱(Immunoaffinity column, IAC)

# SPE原理



( European Mycotoxin Awareness Network)

# IAC原理



AflaTest<sup>®</sup> Affinity Column

(AOAC official method 991.31)

(European Mycotoxin Awareness Network)



# 定性及定量分析

---

- 螢光判讀法(Fluorometer)
- 高效液相層析法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)
  - 碘衍生化
  - 光化學衍生化
- 液相層析質譜法(LC-MS)



# 螢光判讀法

---

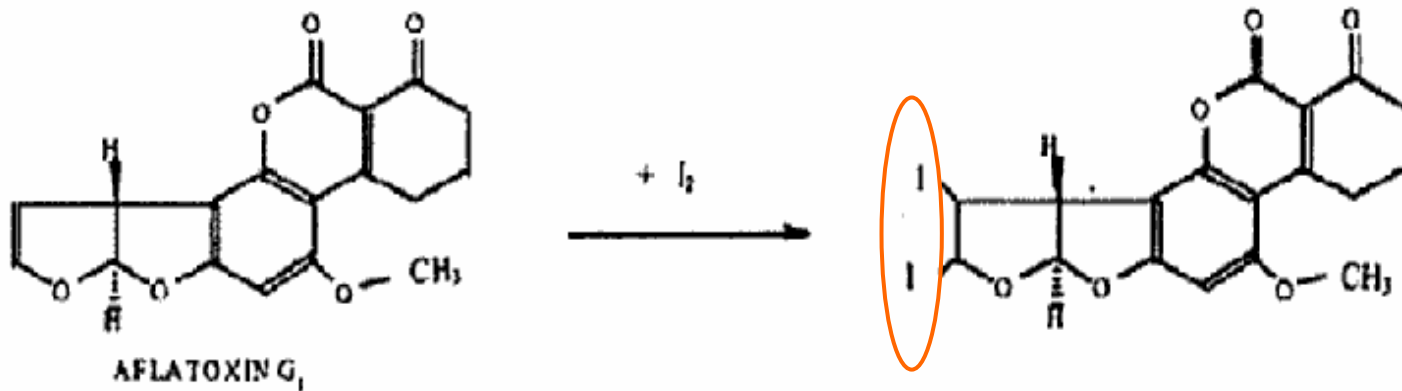
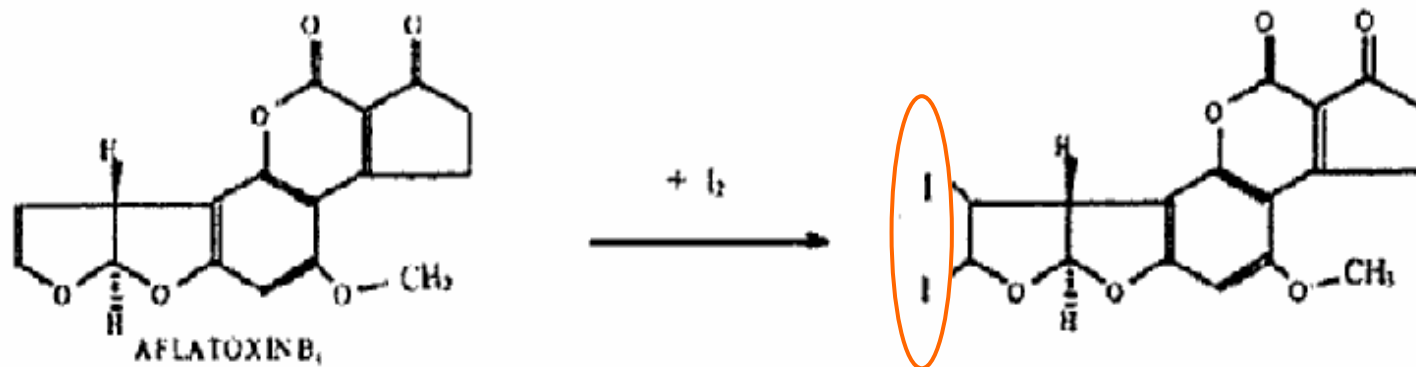
- 設備簡單，操作方便
- 偵測黃麴毒素總量
- 可作為檢體之篩檢 (screening) 試驗
- 檢出量超過衛生標準時，可以HPLC確認各種黃麴毒素之個別含量



# 高效液相層析法-1

- 管柱後衍生法(AOAC及CNS)
  - 使用C<sub>18</sub>管柱分離毒素，再以碘衍生生化反應裝置進行衍生生化反應，增加螢光吸收值
  - 可偵測個別黃麴毒素含量
  - 最低檢出量：B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>之偵測極限分別為0.2、0.2、0.3、0.3 ppb

# 碘衍生化反應原理





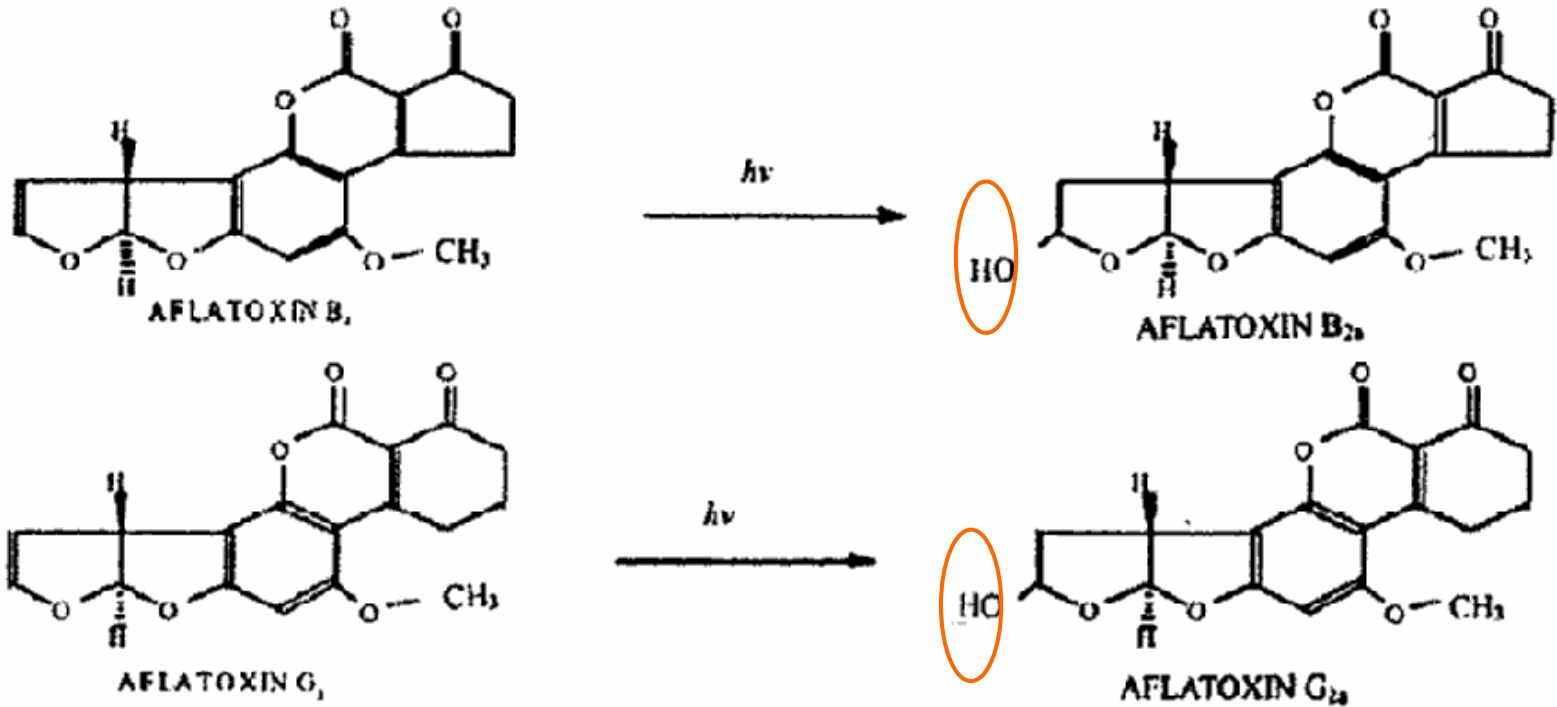
## 高效液相層析法-2

### ➤ 管柱後衍生法

- 使用C<sub>18</sub>管柱分離毒素，再以光化學反應裝置進行衍生化反應，增加螢光吸收值
- 可偵測個別黃麴毒素含量
- 最低檢出量：B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>之偵測極限分別為0.2、0.1、0.2、0.1 ppb



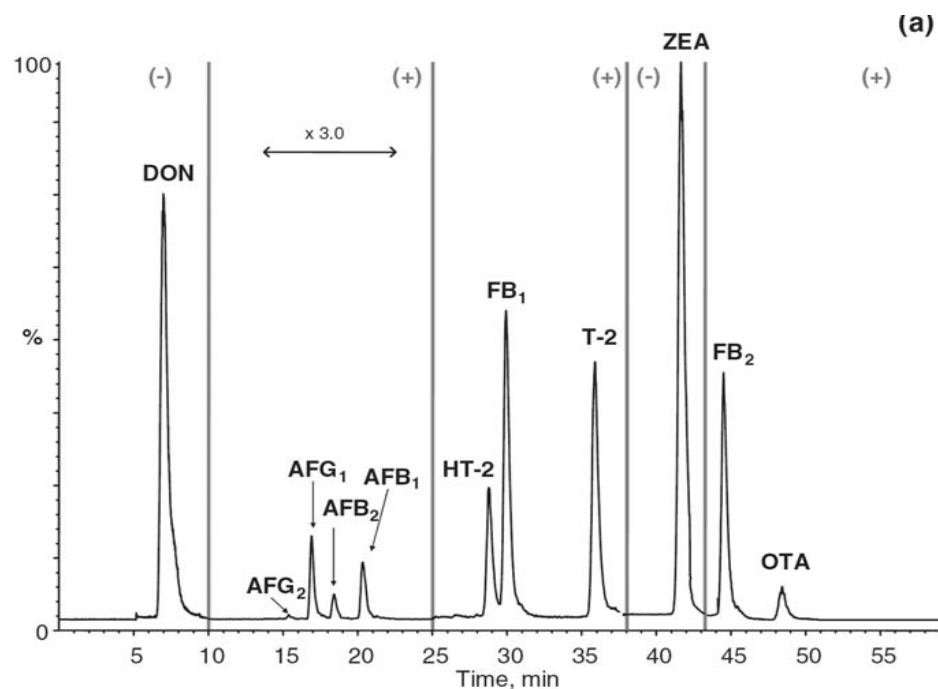
# 光化學衍生化反應原理



•美國AURA公司製造之KRC 25-25光化學反應器，構造係將長25公尺之PTFE材質細管(1/16 inch OD × 0.25 mm ID)編織成長方形並固定於具254 nm紫外線照射之不透光燈盒內，使AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub>流經此管中轉變為AFB<sub>2a</sub>、AFG<sub>2a</sub>。

# 液相層析質譜法

- 在高效液相層析儀後方接上質譜儀
- 能快速同步分析多種毒素
- 偵測極限低
- 儀器設備昂貴，須具經驗人員操作



(Lattanzio *et al.*, 2007)



# 國內目前應用之方法

- 中華民國國家標準方法CNS4090，類號N6097方法(衛署授食字第0900002652號指定為公告方法)。(螢光判讀法及HPLC碘衍生法)
  
- 99年10月15日署授食字第0991903564號(HPLC光化學衍生法)

## [www.fda.gov.tw](http://www.fda.gov.tw) / 業務專區 / 研究檢驗 / 公告檢驗方法

99 年 10 月 15 日署授食字第 0991903564 號公告修正

98 年 11 月 16 日署授食字第 0981800468 號公告

### 食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗 Draft Method of Test for Mycotoxin in Foods – Test of Aflatoxins

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)。



# 檢液製備-I

檢體磨碎混勻

↓ 稱取25 g，置於不銹鋼杯中

↓ 加氯化鈉 5 g

↓ 加 60% 甲醇/水 125 mL

↓ 以 15,000 rpm 均質 2 分鐘後，用 Whatman 1 號濾紙過濾

↓ 取濾液 20 mL

↓ 加去離子水 20 mL

↓ 用玻璃纖維濾紙作細過濾



## 檢液製備-II

- ↓ 取濾液 10 mL，以 1 滴/秒之流速分別通過免疫親和管
  - ↓ 以去離子水 10 mL 清洗免疫親和管2次
  - ↓ 取 LC 級甲醇 1 mL 以 1 滴/秒流速通過免疫親和管
  - ↓ 收集純化後之檢液於玻璃試管
  - ↓ 加去離子水定量至2 mL
  - ↓ HPLC分析
- 加溴發展液，  
螢光判讀分析



# 螢光判讀

- 校正螢光判讀機：使用Vicam校正用標準液套組。
- 黃麴毒素總量之測定：將檢液與等體積之溴發展液(當日配製並儲存於褐色瓶中之0.003% 溴水)混合後，置於螢光判讀機中判讀結果。僅需60秒。



# 層析條件

- 標準液及檢液注入量：50  $\mu$ L
- 分析管柱：4.6 mm  $\times$  25 cm，5  $\mu$ m，Cosmosil 5C18-AR 管柱
- 移動相：45 % 甲醇水溶液，流速：1 mL / min
- 管柱後衍生系統：0.5 mm  $\times$  610 cm 鐵弗龍管於 70  $^{\circ}$ C 中保溫反應
- 後衍生化溶液：0.05% 碘溶液，流速：0.3 mL / min
- 螢光偵測器：激發光 360 nm 發射光 440 nm





# 黃麴毒素標準液製備

- 原液:美國 SUPELCO 公司 Aflatoxin Mix Kit-M
- 原液濃度  $AFB_1$   $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $AFB_2$   $0.3 \mu\text{g/mL}$ 、 $AFG_1$   $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $AFG_2$   $0.3 \mu\text{g/mL}$ ，製備出各種濃度之黃麴毒素標準液，並製作標準曲線供定量分析用

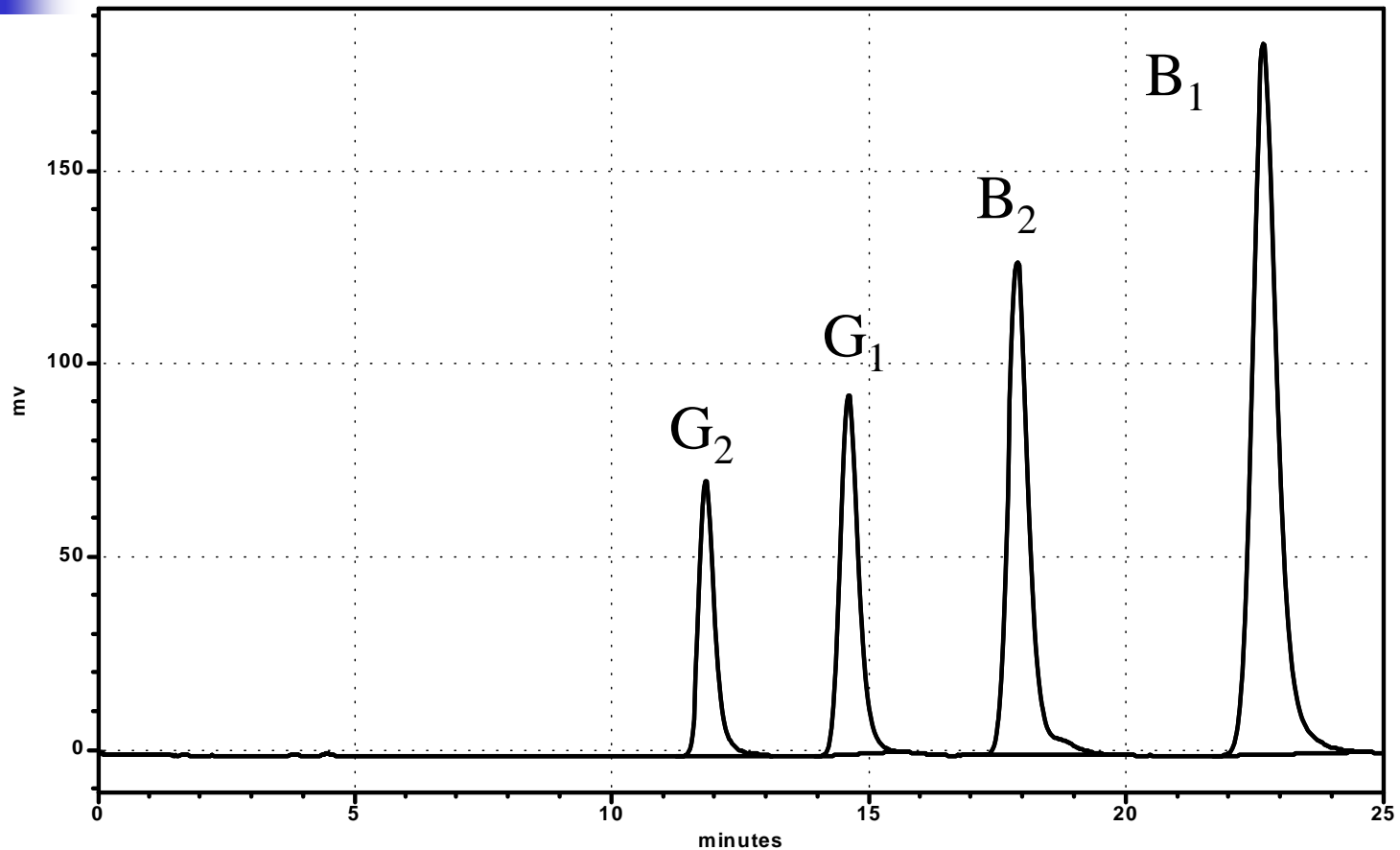


# 計算公式

---

- $W = 25 \text{ g} \times (20 \text{ mL} / 125 \text{ mL}) \times (10 \text{ mL} / 40 \text{ mL}) = 1 \text{ g}$
- 檢體中黃麴毒素含量  $C'$  (ppb) =  $C \times T_v / W = C \times 2$
- $W$ ：最終定容檢液所含檢體重 (1 g)
- $T_v$ ：最終定容檢液體積 (2 mL)
- $C$ ：檢液之黃麴毒素濃度 (ng/mL)

# 高效液相層析圖譜

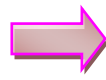
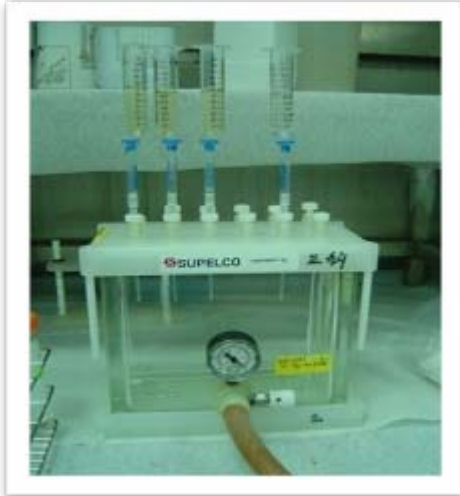
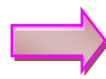
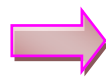
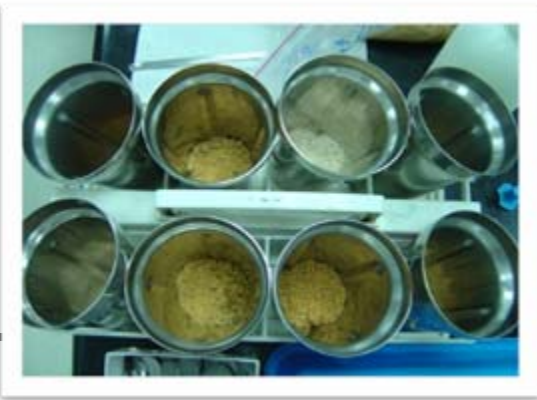
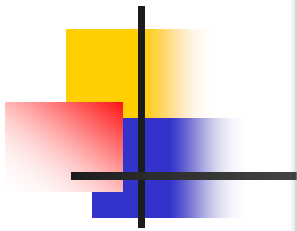




# 實驗操作注意事項

---

- 帶手套操作
- 使用不透光器具操作
- 器材在重複使用或丟棄前，需先浸泡於10%漂白劑中
- 未用畢之標準品或黃麴毒素含量高之樣品，需先以鹼液處理後丟棄之



# 本局歷年來針對花生製品中 黃麴毒素之調查結果



抽驗年份 (民國)	件數	檢出件數 (%)	不合格件數 (%)
86	130	38 (29.2)	9 (6.9)
87	218	88 (40.4)	15 (6.9)
88	83	31 (37.3)	9 (10.8)
89	95	22 (23.2)	4 (4.2)
90	118	13 (11.0)	2 (1.7)
93	126	53 (42.0)	6 (4.8)
94	178	67 (37.6)	8 (4.5)
95	108	27 (25.0)	12 (11.1)
96	163	46 (28.2)	16 (9.8)
97	140	42 (30.0)	15 (10.7)
98	133	45 (33.8)	8 (6.0)
99	135	30 (22.2)	5 (3.7)
合計	1627	502 (30.9)	109 (6.7)

# 香辛料中黃麴毒素調查



年度	2008年			2009年			2010年		
種類	抽驗件數	檢出件數 (%)	不合格件數 (%)	抽驗件數	檢出件數 (%)	不合格件數 (%)	抽驗件數	檢出件數 (%)	不合格件數 (%)
辣椒粉	22	10 (45.5)	<b>2 (9.1)</b>	22	6 (27.3)	0	3	0	0
胡椒粉	20	1 (5.0)	0	11	1 (9.1)	0	9	2 (22.2)	0
咖哩粉	20	7 (35.0)	0	13	5 (38.5)	0	2	1 (50.0)	0
辣椒醬	-			12	0	0	-		
花椒	-			2	0	0	-		
五香粉	-			-			1	1 (100)	0
共計	<b>62</b>	<b>18 (29.0)</b>	<b>2 (3.2)</b>	<b>60</b>	<b>12 (20.0)</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>4 (26.7)</b>	<b>0</b>

# 堅果製品中黃麴毒素調查

年度 種類	2007年			2008年			2010年		
	抽驗件數	檢出件數(%)	不合格件數(%)	抽驗件數	檢出件數(%)	不合格件數(%)	抽驗件數	檢出件數(%)	不合格件數(%)
核桃仁	27	1 (3.7)	0	-			-		
杏仁	26	4 (15.4)	0	21	2 (9.5)	0	-		
開心果	25	5 (20.0)	<b>2 (8.0)</b>	25	5 (20.0)	<b>1 (4.0)</b>	5	3 (60.0)	<b>1 (20.0)</b>
腰果	25	0	0	-			-		
葵瓜子	-			22	1 (4.5)	<b>1 (4.5)</b>	-		
南瓜子	-			25	0	0	-		
西瓜子	-			18	0	0	-		
共計	<b>103</b>	<b>10 (9.7)</b>	<b>2 (1.9)</b>	<b>111</b>	<b>8 (7.2)</b>	<b>2 (1.8)</b>	<b>5</b>	<b>3 (60.0)</b>	<b>1 (20.0)</b>





# 本局91~93年中藥材中黃麴毒素之調查結果

(黃耆、薏苡苳、延胡索、蓮子、山藥)

檢體來源：台灣各地區中藥廠及中藥店

年度	藥材名稱	檢出件數/總件數(%)	超出15 ppb件數/總件數(%)	檢出含量範圍(ppb)
91	黃耆	9/100 (9)	2/100 (2)	4.5~55.1
92	薏苡苳	11/100 (11)	1/100 (1)	1.3~13.0
93	延胡索	3/50 (6)	2/50 (4)	3.0~18.1
93	蓮子	1/50 (2)	1/50 (2)	62.3
93	山藥	0/50 (0)	0/50 (0)	

# 本局96年中藥材中黃麴毒素之調查結果

單位：ppb

檢體	黃麴毒素 B <sub>1</sub>	黃麴毒素 B <sub>2</sub>	黃麴毒素 G <sub>1</sub>	黃麴毒素 G <sub>2</sub>	總計
延胡索	0~256.54	0~6.01	0~1.96	0	0~258.66
神麴	0~6.69	0	0~6.30	0	0~12.99
女貞子	0	0	0	0	0
小茴香	0	0	0	0	0
山楂	0	0	0	0	0

檢體	限量標準 (ppm)	
	檢出件數/總件數(%)	超出公告限量件數(15 ppb)/總件數(%)
延胡索	11/20(55)	6/20(30)
神麴	1/20(5)	0/20(0)
女貞子	0/20(0)	0/20(0)
小茴香	0/20(0)	0/20(0)
山楂	0/20(0)	0/20(0)

# 本局97年中藥材中黃麴毒素之調查結果

藥材名稱	檢出黃麴毒素件數/ 總件數(%)	超出15 ppb限量件數/ 總件數(%)
延胡索	11/20 (55.0)	6/20 (30.0)
蓮子	7/20 (35.0)	7/20 (35.0)
橘皮	3/20 (15.0)	0/20 (0.0)
胡椒	1/20 (5.0)	0/20 (0.0)
神麴	1/20 (5.0)	0/20 (0.0)
女貞子	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
小茴香	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
山楂	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
紅棗	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
枸杞子	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
山茱萸	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
甘草	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
黃耆	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
八角茴香	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
大腹皮	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
合計	23/300 (7.7)	13/300 (4.3)

延胡索：2.3 ~ 258.6 ppb

蓮子：22.4 ~ 429.5 ppb

- 延胡索及蓮子之污染情形最嚴重，多為大陸進口。
- 檢出黃麴毒素B<sub>1</sub>最多，B<sub>2</sub>次之。G<sub>1</sub>及G<sub>2</sub>較少。

# 本局98-99年中藥材中黃麴毒素之調查結果



98年	99年
款冬花	白芍
豬苓	石菖蒲
薑黃	茯苓
升麻	枳殼
蒼朮	秦艽
川貝母	梔子
黃芩	龍膽
共140件	共140件

均未檢出



# 送TFDA審查時應準備之文件

---

- 檢驗方法SOP
- 檢驗結果報告
- 其他確效試驗資料



# 準備確效試驗資料之原因

- ▶ 現參考之黃麴毒素公告檢驗方法為「食品中黴菌毒素檢驗方法—黃麴毒素之檢驗」。免疫親合管柱商品之開發與檢驗方法設計皆以「食品」為主要基質，如花生與穀類。
- ▶ 此方法是否適用於中藥材中黃麴毒素之檢驗，須由藥廠提供相關確效資料，以證明此方法亦可進行該項中藥材(單方或濃縮製劑)中黃麴毒素之檢驗。



## 確效試驗資料—添加回收率試驗

- ▶ 需取空白的中藥檢體進行添加回收率試驗。如檢驗對象為延胡索，需以未檢出黃麴毒素之延胡索為空白檢體，添加黃麴毒素標準品，添加濃度以低、中、高濃度各一點為宜(如1、5及20 ppb)。標準品須在檢體萃取前添加，進行完整個前處理流程之後上機分析。

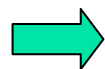
- ▶ 回收率(%)= 
$$\frac{\text{上機分析後濃度}}{\text{標準品添加濃度}} \times 100\%$$

# 確效試驗資料—添加回收率試驗

標準品spike 1 ppb，如何做？

$$100 \text{ ng/g} \times 0.25 \text{ mL} = 25 \text{ ng}$$

$$1000 \text{ ng/g} \times 0.025 \text{ mL} = 25 \text{ ng}$$



$$25 \text{ ng} / 25 \text{ g} = 1 \text{ ppb}$$

標準品溶質重

取樣檢體重

※即將檢體粉末25g與NaCl 5g加入不銹鋼杯中，將1000 ng/g黃麴毒素B<sub>1</sub>標準品加入，再添加125 mL甲醇萃取溶液，進行均質與後續過濾、淨化等流程

標準品spike 5 ppb，如何做？





## 確效試驗資料—添加回收率試驗

- ▶ 添加回收率試驗結果，黃麴毒素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及G<sub>2</sub>應分別計算，理想的回收率介於60~120%之間。
- ▶ 請附上標準品與檢體之層析圖譜至少各1張，標準品須註明濃度，圖譜上需有波峰面積數字，以供作回收率計算之證明。



## 確效試驗資料

---

- ▶ 若分析儀器不是使用公告方法中的HPLC，而是使用LC/MS/MS，請詳細列出LC/MS/MS分析條件。
- ▶ 檢驗方法SOP與檢驗結果報告中均應寫出該方法之檢出限量(detection limit)。黃麴毒素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及G<sub>2</sub>之檢出限量總和應不可高於法規限量標準15 ppb之一半(7.5 ppb)。



# 常見問題

---

- 未進行添加回收率試驗
- 添加回收率試驗未用該中藥當作空白基質進行
- 添加回收率試驗中所添加之標準品濃度太高
- 添加回收率試驗中所添加標準品之時機不對
- 未註明檢出限量(如檢驗結果僅寫N.D.未檢出)
- 檢出限量太高
- 未附檢驗報告書
- 其他書面上疏失



---

*Thank you for your attention!*



**FDA** 食品藥物管理局  
Food and Drug Administration

保障你我健康 · 藥求安全 · 食在安心