

中藥材中黃麴毒素污染之調查(III)

陳儀驛 秦玲 劉宜祝 施養志 羅吉方

食品藥物管理局研究檢驗組

摘要

為瞭解中藥材中黃麴毒素污染情形，本調查自98至100年間在臺灣各地區中藥廠及中藥店，隨機價購款冬花、豬苓、薑黃、升麻、蒼朮、川貝母、黃芩、白芍、石菖蒲、茯苓、枳殼、秦艽、梔子、龍膽、川木通、北五味子、柏子仁、葛根、遠志與澤瀉等20種中藥材，每品目各20件，總計400件。應用食品中黃麴毒素檢驗法進行檢測，結果顯示，於20件(100%)柏子仁中檢出，污染範圍為1.8-33.8 ppb；於11件(55%)遠志中檢出，污染範圍為0.7-12.0 ppb；於1件(5%)葛根中檢出，污染量為0.8 ppb；於1件(5%)澤瀉檢出，污染量為4.1 ppb，其餘款冬花等16種中藥材則均未檢出。本計畫結果提供行政管理制定管制標準之參考依據。

關鍵詞：黃麴毒素、中藥材

前言

臺灣為高溫與潮濕之氣候，市售中藥材販售前均經過長時間之儲存，因植物性中藥材常含多量之碳水化合物與營養成分，可作為微生物生長與產毒之受質，因此若藥材儲存不當，極易造成真菌滋長而產生毒素。真菌毒素中毒性最強且有致癌性者為黃麴毒素(aflatoxin, AF)，主要由麴菌屬中之*Aspergillus flavus*、*Aspergillus parasiticus*等所產生，其中以AF B₁、B₂、G₁、G₂最常檢出，而上述四種AF中又以AF B₁毒性最強。

國內中藥材大都仰賴進口，來源分歧，無法由產地掌控藥材之品質，為避免中藥材黃麴毒素影響民眾健康，行政院衛生署目前已訂定八角茴香、紅棗、大腹皮、女貞子、小茴香、山楂、山茱萸、枸杞子、胡椒、麴類、延胡索、橘皮、黃耆與蓮子等14種中藥材中黃麴毒素之限量不得超出15 ppb⁽¹⁾之規定，以確保用藥安全。

91-93⁽²⁾、96-97⁽³⁾年已完成黃耆等17種中藥材之黃麴毒素污染量調查，本次調查則選擇款冬花

等20種藥材，價購各20件共400件檢體，98、99年委託A實驗室以CNS4090食品中黃麴毒素檢驗法⁽⁴⁾，100年委託B實驗室以「食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗」⁽⁵⁾進行黃麴毒素B₁、B₂、G₁、G₂等4種之檢測。執行期間以能力試驗、實驗室查核及管制樣品，來確保檢驗數據之品質。

材料與方法

一、材料

(一) 檢體來源

自臺灣各地區中藥廠及中藥店購買款冬花(Farfarae Flos)、豬苓(Polyporus)、薑黃(Curcumae Longae Rhizoma)、升麻(Cimicifugae Rhizoma)、蒼朮(Atractylodis Rhizoma)、川貝母(Fritillariae Cirrhosae Bulbus)、黃芩(Scutellariae Radix)、白芍(Paeoniae Alba Radix)、石菖蒲(Acori Graminei Rhizoma)、茯苓(Poria)、枳殼(Citri Immaturus Fructus)、秦艽(Gentianae Macrophyllae

Radix)、梔子(Gardeniae Fructus)、龍膽(Gentianae Rhizoma et Radix)、川木通(Clematidis Caulis)、北五味子(Schisandrae Fructus)、柏子仁(Platycladi Semen)、葛根(Puerariae Radix)、遠志(Polygalae Radix)與澤瀉(Alismatis Rhizoma)等20種中藥材各20件，共計400件。每件檢體逐一確定基原後，再委託GMP中藥廠予以粉碎，並過20號篩備用。

(二) 藥品與試藥

1. 標準品Aflatoxin B₁、B₂、G₁、G₂ Mix Kit
(購自SUPELCO公司，美國)
2. 溶劑：甲醇HPLC級
3. 試藥：碳酸氫鈉，氯化鈉、Iodine顯色劑、次氯酸鈉均採試藥級

(三) 器材及器具

1. 免疫親合性管柱：採用美國VICAM公司之 AflaTest® P
2. 震盪機：BRANSON
3. 均質機：SMT PROCESS Homogenizer (PH91)

二、儀器裝置：高效能液相層析儀(HPLC)

- (一) 溶媒輸送系統：Waters 600 Controller
- (二) 後置反應溶媒輸送系統：Waters Reagent Manager Pump
- (三) 檢測器：Waters 2475 Fluorescence Detector
- (四) 自動注射裝置：Waters 717 Plus Auto Sampler

三、實驗方法

(一) 乾燥減重⁽⁶⁾

將秤量瓶置於105°C烘箱內乾燥1小時，於乾燥器內靜置30分鐘，精確稱量。檢體精確量取約5 g，置於前述秤量瓶中，於烘箱內以105°C乾燥5小時後，置於乾燥器內靜置30分鐘，稱量。繼續以105°C乾燥1小時，乾燥器內靜置30分鐘，稱量，直到先後二次之減重相差不超過檢體取樣重量的0.25%為止，由其減失之重量計算檢體乾燥減重百分率。

(二) 標準曲線之製作

取黃麴毒素標準原液，以50%甲醇稀釋調配

成一系列濃度：黃麴毒素B₁與G₁ (0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 ppb)，黃麴毒素G₂與B₂ (0.03、0.15、0.3、0.45、0.6 ppb)，分別注入於高效能液相層析儀分析，以各標準品濃度為X軸，以各標準品波峰面積為Y軸做圖並求出標準曲線之迴歸方程式($y = mx + b$)及相關係數(r)。

(三) 檢體前處理方法

1. 萃取

取磨碎混勻之檢體25.0 g，精確稱定，置於均質機中，加氯化鈉5.0 g及碳酸氫鈉2.0-5.0 g，再加入80%甲醇溶液100 mL混合，使用15000 rpm離心機離心2 min，以濾紙過濾。取濾液10.0 mL，以水定容至50 mL，混勻後，再以玻璃纖維濾紙過濾，收集濾液。

2. 淨化

免疫親合性管柱以10 mL去離子水清洗後，精確量取上述濾液10.0 mL注入免疫親合性管柱，以每秒1滴之流速通過免疫親合性管柱，待濾液完全通過管柱後，以10 mL 0.1% Tween 20沖洗，流速1滴/秒，再以去離子水10 mL沖洗，流速1滴/秒。待管柱內水排淨後，取1.0 mL甲醇，以每秒1滴之流速沖提，收集沖提液於定量瓶中，以去離子水定容至2.0 mL，續以0.45 μm濾膜過濾，取濾液供作檢液，再以高效能液相層析儀進行偵測。

(四) 高效能液相層析法條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C 18-AR；膜厚5 μm，內徑4.6 mm，長250 mm
2. 移動相溶液：甲醇：水(45 : 55)
3. 偵測器
 - (1) 螢光偵測器：激發光源波長360 nm及發射光源波長440 nm
 - (2) 光化學反應器：KRC 25-25
4. 移動相流速：1.0 mL/min
5. 樣品注射體積：50 μL

(五) 層析後碘反應

1. 碘溶液配製

取0.125 g碘溶解於25 mL甲醇中，以去離子水定容至250 mL，用0.45 μm的Nylon濾膜過濾二次，於超音波震盪至無氣泡為止（使用當日配製）。

2. 溫度控制：70°C

3. 流速：0.3 mL/min

(六)定性與定量

1. 定性

檢體以高效能液相層析儀檢出含黃麴毒素時，視需要以液相層析串聯式質譜檢測儀(LC/MS/MS)進行再確認。

2. 定量

(1)當待測物定性確認後，以標準曲線定量。

(2)依下式計算樣品之濃度：

$$\text{檢體中黃麴毒素含量}(\text{ng/g}) = C \times V \times F \div W$$

C：檢液注入HPLC所得面積代入標準曲線求得之濃度(ppb)

V：最終定容體積(mL)

W：最終定容液所含試樣重(g)

F：稀釋係數

(3)樣品之黃麴毒素再依檢體乾燥減重百分率換算成乾品之黃麴毒素含量。

(七)品質管制⁽⁷⁾

1. 標準曲線線性相關係數：須大於0.995。

2. 每種品目之檢體必須同時分析空白樣品(BK)、品管樣品(QC)、添加回收樣品(SK)及添加重複分析(SKR)。

3. 空白樣品(BK)

依三、(三) 1步驟，去除檢體，以三、(三) 1、2節前處理方法萃取及純化，以確保分析流程無污染。

4. 品管樣品(QC)

品管樣品以標準曲線定量，其回收率須符合黃麴毒素B₁、B₂、G₁為60-120%，G₂為40-120%容許誤差內。

5. 添加回收樣品(SK)

每一種藥材粉末分別添加適量黃麴毒素混

合標準溶液，並進行前處理，計算其回收率。

6. 重複分析(SKR)

重複分析品管樣品，並以標準曲線定量，其結果之相對標準偏差值(CV)須小於20%。

7. 本局提供外部品管檢體，係自每一品目之20件檢體中，各取其中一檢體分成二份，作為外部品管檢體用，與原來之檢體共計三份，依檢驗結果之相對標準偏差值(CV)⁽⁸⁾應落在下表之範圍內，否則不符合本局監管之規定，該品目所有檢體應重新檢驗。

檢出量(ppb)	CV容許值(%)
1000	± 10
100	± 20
10	± 50

結 果

一、乾燥減重試驗結果

本次調查款冬花等20種中藥材之乾燥減重結果，400件藥材介於1.6-22.0%之間。由於藥材自身特性、儲存情況迥異，造成各藥材間含水量之差異，為免因含水量多寡而影響試驗結果之含量，本調查檢測之結果均換算成藥材乾品中之含量。

二、黃麴毒素之標準曲線及最低檢測濃度

四種黃麴毒素對照標準品以各個不同濃度分析，其各標準曲線之相關係數均大於0.995，顯示具良好之線性關係。其相關係數範圍及檢出限量如下。

黃麴毒素	相關係數	檢出限量(ppb)	
		98、99年度 ^a	100年度 ^b
B1	0.9996-0.9999	0.25	0.2
B2	0.9991-1.0000	0.20	0.1
G1	0.9991-0.9999	0.25	0.2
G2	0.9989-0.9999	0.20	0.1

^a98、99年委託A實驗室

^b100年委託B實驗室

三、中藥材中黃麴毒素之檢測結果

款冬花等20種藥材各20件磨粉後取一部份測其乾燥減重，另一部份以親和性管柱AflaTest® P萃取後，再以高效能液相層析儀進行偵測，結果如表一、二所示。

(一)柏子仁20件檢品中，檢出AF者計20件(100.0%)，其含水量測定結果分佈於2.6-7.9%，20件均有檢出B₁，檢測值為1.3-25.4 ppb；檢出B₂者20件，檢測值為0.4-5.2 ppb；檢出G₁者7件，檢測值為0.3-3.9 ppb；檢出G₂者12件，檢測值為0.1-1.3 ppb；黃麴毒素總量則分佈於1.8-33.8 ppb。

表一、柏子仁檢體檢出黃麴毒素者之含水量及黃麴毒素污染量

檢體	含水量 (%)	黃麴毒素污染量(ppb)					
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	B ₁ +B ₂ G ₁ +G ₂	產地
1	4.7	2.8	1.2	—	—	4.0	山東
2	5.4	1.7	0.6	—	—	2.3	不明
3	4.8	25.4	4.0	—	0.3	29.7	東北
4	7.8	11.8	2.4	—	0.2	14.4	中國大陸
5	6.3	2.1	0.5	—	—	2.6	湖北、四川
6	2.6	3.5	1.0	—	—	4.5	河南
7	4.5	1.3	0.5	—	—	1.8	山東
8	3.5	5.4	1.8	—	0.1	7.3	山東
9	5.8	6.1	1.6	0.5	0.2	8.4	山東
10	5.8	14.2	2.4	—	—	16.6	不明
11	6.8	8.8	1.8	—	0.1	10.7	不明
12	3.6	9.6	1.9	0.4	0.3	12.2	中國大陸
13	5.7	10.7	2.8	0.4	0.2	14.1	河南
14	3.7	12.4	1.9	0.3	0.2	14.8	廣西
15	5.2	1.5	0.4	—	—	1.9	不明
16	5.6	23.4	5.2	3.9	1.3	33.8	不明
17	6.2	15.0	2.6	0.4	0.2	18.2	不明
18	5.4	8.4	2.1	—	0.1	10.6	不明
19	7.9	4.6	1.0	—	—	5.6	不明
20	4.8	2.1	0.4	1.8	0.1	4.4	不明

—：低於檢出限量

表二、遠志、澤瀉及葛根檢體檢出黃麴毒素者之含水量及黃麴毒素污染量

檢體	含水量 (%)	黃麴毒素污染量(ppb)					
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	B ₁ +B ₂ G ₁ +G ₂	產地
遠志							
1	2.6	1.7	—	2.3	—	4.0	安徽
2	3.0	1.4	—	0.9	—	2.3	不明
3	3.7	—	1.0	—	—	1.0	浙江、湖北
4	2.4	1.6	—	2.7	—	4.3	江西
5	2.5	0.7	—	—	—	0.7	山西
6	3.3	2.6	—	—	—	2.6	山西
7	3.0	1.5	—	1.2	—	2.7	不明
8	2.6	1.5	0.3	—	—	1.8	河北
9	2.5	8.1	0.8	3.1	—	12.0	不明
10	3.0	0.9	—	—	—	0.9	不明
11	3.0	0.7	—	1.9	—	2.6	不明
澤瀉	4.5	3.6	0.5	—	—	4.1	不明
葛根	3.4	—	—	0.8	—	0.8	中國大陸

—：低於檢出限量

(二)遠志20件檢品中，檢出AF者計11件(55.0%)，其含水量測定結果分佈於2.4-3.7%，檢出B₁者計10件，檢測值為0.7-8.1 ppb；檢出B₂者3件，檢測值為0.3-1.0 ppb；檢出G₁者6件，檢測值為0.9-3.1 ppb；黃麴毒素總量則分佈於0.7-12.0 ppb。

(三)澤瀉20件檢品中，檢出AF者1件(5.0%)，其含水量測定結果為4.5%，其B₁檢測值為3.6 ppb；B₂檢測值為0.5 ppb；黃麴毒素總量則為4.1 ppb。

(四)葛根20件檢品中，檢出AF者1件(5.0%)，其含水量測定結果為3.4%，其G₁檢測值為0.8 ppb，黃麴毒素總量則為0.8 ppb。

(五)款冬花、豬苓、薑黃、升麻、蒼朮、川貝母、黃芩、白芍、石菖蒲、茯苓、枳殼、秦艽、梔子、龍膽、川木通與北五味子各20件則均未檢出AF。

討 論

一、藥材品項評選與來源

本調查計畫藥材選擇尚未制定AF限量之款冬花、豬苓、薑黃、升麻、蒼朮、川貝母、黃芩、白芍、石菖蒲、茯苓、枳殼、秦艽、梔子、龍膽、川木通、北五味子、柏子仁、葛根、遠志與澤瀉等20種中藥材各20件，共400件檢體。檢體86%購自中藥廠，係因中藥廠之中藥材使用量大，且直接關係到中藥製劑之品質，故以向中藥廠購買藥材列為優先，若該品目不足20件者，再至中藥房購買補足。

本計畫400件檢體，其中344件(86%)購自25家中藥廠，另56件(14%)則購自13家中藥房，根據中藥廠及中藥房所提供之產地資料進行分析，有1件產地為印度，1件為越南，產地未知者有124件，其餘274件則均由中國大陸輸入，佔68.5%。經查33件檢出黃麴毒素之檢體，15件產地未知，其餘18件則均由中國大陸輸入，分布於山西、山東、四川、安徽、江西、河北、河南、浙江、湖北、廣西各省。本次實驗所購之藥材，同種藥材間來源有2-3個產地，然產地與藥材之黃麴毒素含量並無直接相關。

二、檢驗品質管制

為確保檢驗結果之正確性，除每品目之外部品管檢體結果需符合本局要求外，均同時進行分析空白樣品、品管樣品、添加回收樣品及添加重複分析。

4種黃麴毒素對照標準品以不同濃度分析，其各標準曲線之相關係數均大於0.995，顯示具良好之線性關係。依據行政院衛生署公告⁽¹⁾之「中藥藥材污穢物質限量」項目黃麴毒素之限量標準為15 ppb，本實驗之分析方法其偵測極限，B₁與G₁為0.2 ppb；B₂與G₂為0.1 ppb，可符合限量標準之最低檢測限量之檢測。而各項之回收率，重複分析相對標準偏差值、實驗室內部管制樣品之容許誤差皆在管制範圍內，各項結果顯示執行單位之檢測系統非常良好。

本實驗之(一)、空白樣品分析皆未檢出黃麴毒素，確認分析流程及實驗器具無污染。(二)、各品管樣品之測試值均落於管制範圍間。B₁為67.5-96.7%，B₂為76.4-100.9%，G₁為76.6-96.8%，均落在60-120%管制範圍內；G₂為69.0-80.6%，落在40-120%管制範圍內。(三)、添加回收樣品分析會因藥材基質而有不同，其回收率範圍B₁為66.3-83.6%，B₂為60.0-98.8%，G₁為63.0-88.9%，均落在60-120%管制範圍內；G₂為69.0-80.6%，落在40-120%管制範圍內。(四)、重複分析之相對標準偏差值(CV)均小於20%。B₁為1.3-16.4%，B₂為0.3-16.4%，G₁為0.4-19.3%，G₂為3.0-16.9%。(五)、本計畫外部品管檢體為隨機取樣，其中柏子仁外部品管檢體檢出黃麴毒素B₁ 4.24及B₂ 0.92 ppb，其品管CV值11.3及8.8% (容許值為50%)，遠志外部品管檢體檢出黃麴毒素B₁為1.43及G₁ 1.15 ppb，其CV值為21.4及9.2% (容許值為50%)。上述結果顯示執行單位之實驗室品質管制符合品管要求。

除上述之品質管制外，本局於委託檢驗期間，亦進行盲樣測試；及實驗室之實地查核，以確保品保要求。盲樣測試檢體為自行配製，執行單位之測試結果與理論值之CV值，符合品管要求，顯示執行單位之分析具良好準確度。另實驗室查核依數據品質目標、人員組織、樣品管制作業、儀器設備之校正程序、品質管制程序、檢測數據驗算及報告程序等項目進行，均符合本局品保品管要求。

三、中藥材中黃麴毒素之檢測結果

款冬花等20種中藥材各20件共計400件檢體中，柏子仁20件(表一)，遠志11件，澤瀉及葛根各1件(表二)共33件檢體檢出，檢出率約8.3%。

檢出黃麴毒素33件中(表三)，柏子仁占20件，分別為黃麴毒素B₁與B₂各20件，黃麴毒素G₁ 7件及黃麴毒素G₂ 12件。遠志占11件，分別為黃麴毒素B₁為10件，黃麴毒素B₂為3件及黃麴毒素G₁為6件。澤瀉1件，檢出黃麴毒素B₁及黃麴毒素B₂。葛根1件，檢出黃麴毒素G₁。綜上，柏子仁7

表三、黃麴毒素檢驗結果統計

藥材名稱	檢出件數/總件數	超出15 ppb限量件數/總件數
	(%)	(%)
柏子仁	20/20 (100.0)	4/20 (20.0)
遠志	11/20 (55.0)	0/20 (0.0)
澤瀉	1/20 (5.0)	0/20 (0.0)
葛根	1/20 (5.0)	0/20 (0.0)
合計	33/400 (8.3)	4/400 (1.0)

件檢出4種黃麴毒素，柏子仁5件及遠志1件檢出3種黃麴毒素，柏子仁8件、遠志6件及澤瀉1件檢出2種黃麴毒素，其餘5件均僅檢出1種黃麴毒素。

以中藥材中檢出黃麴毒素項目來看，柏子仁7件檢出4種黃麴毒素，遠志1件檢出3種黃麴毒素，澤瀉1件檢出2種黃麴毒素，葛根檢出1種黃麴毒素(表一、二)。以柏子仁檢出率100%最高，主要檢出黃麴毒素B₁與B₂；其次為遠志檢出率55%，主要檢出黃麴毒素B₁；澤瀉與葛根檢出率皆為5%。整體而言，以黃麴毒素B₁檢出率最高。

本計畫款冬花等20種中藥材目前尚未訂定規範，然若依我國對八角茴香等14種中藥材訂定之規範15 ppb⁽¹⁾標準來看，本次檢測之檢體除柏子仁4件超出限量標準，其餘均未超出。

參考文獻

- 行政院衛生署。2006。中藥藥材污穢物質限量。95.11.10署授藥字第0950003346號公告。
- 秦玲、張簡懿芬、陳榮斌、黃成禹、林哲輝。2006。中藥材中黃麴毒素污染之調查。行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報，24: 143-150。
- 秦玲、陳儀驛、曾木全、羅吉方、林哲輝。2009。中藥材中黃麴毒素污染之調查。行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報，27: 65-70。
- 經濟部標準檢驗局。2009。食品中黃麴毒素檢驗法。CNS總號4090類號N6097。
- 行政院衛生署。2010。食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗。99.10.15署授食字第0991903564號公告。
- 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組。2004。中華中藥典第一版。行政院衛生署，台北。
- 行政院環境保護署環境檢驗檢驗所。2004。環境檢驗室品質管制圖建立指引(NIEA-PA105)。93.10.04環署檢字第0930072069E號公告。
- Gunther, F. A. 1980. Interpreting pesticide residue data at the analytical level. Res. Rev. 76: 155-171.

Investigation on the Aflatoxin Contamination in Chinese Herbal Materials (III)

YI-HUA CHEN, LING CHIN, YI-CHU LIU, DANIEL YANG-CHIH SHIH AND CHI-FANG LO

Divison of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

In this survey, 400 samples (20 samples of each *Farfarae Flos*, *Polyporus*, *Curcumae Longae Rhizoma*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Atractylodis Rhizoma*, *Fritillariae Cirrhosae Bulbus*, *Scutellariae Radix*, *Paeoniae Alba Radix*, *Acori Graminei Rhizoma*, *Poria*, *Citri Immaturus Fructus*, *Gentianae Macrophyllae Radix*, *Gardeniae Fructus*, *Gentianae Rhizoma et Radix*, *Clematidis Caulis*, *Schisandrae Fructus*, *Platycladi Semen*, *Puerariae Radix*, *Polygalae Radix* and *Alismatis Rhizoma*) were collected from Chinese medicinal manufactory plants and drug stores in Taiwan during the fiscal year 2011. In order to investigate the aflatoxin (AF) contamination in Chinese herbs, those samples were analyzed by HPLC according to the Chinese National Standard Method for testing aflatoxin in food. Aflatoxin was found in 20 samples of *Platycladi Semen* (1.8-33.8 ppb), 11 samples of *Polygalae Radix* (0.7-12.0 ppb), 1 sample of *Alismatis Rhizoma* (4.1 ppb) and 1 sample of *Puerariae Radix* (0.8 ppb). The results could be provided as the reference for the regulatory authority.

Key words: aflatoxin, Chinese herbs, HPLC