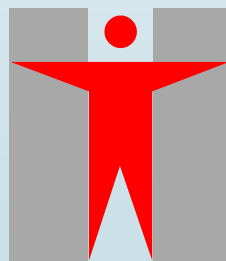


有關本港中藥材 有害殘留物(霉菌毒素) 限度及相關執行的業界技術會議

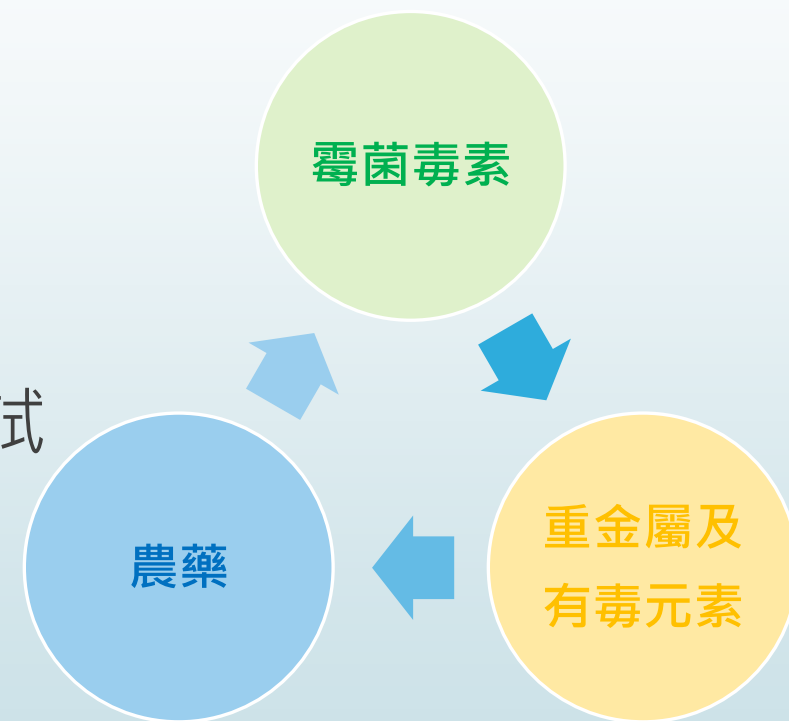
1



衛生署
政府中藥檢測中心
2022年11月

目的

- ▶ 修訂內容及執行方案
- ▶ 提供中藥材中有害殘留物**霉菌毒素 (Aflatoxins)**檢測的技術指引
 - 介紹所涵蓋的有害物質供參考的測試方法
 - 實驗室方法確認的選擇指引



背景

- ▶ 《中華人民共和國藥典》（《中國藥典》）2020年版提升中藥材中有害殘留物（包括**重金屬及有毒元素**、**殘留農藥**及**霉菌毒素**）的安全標準已經實施
- ▶ 香港中醫藥管理委員會（「管委會」）轄下的中藥組以《**中國藥典**》為**基礎**，全面審視並考慮修訂本地中藥材中有害殘留物的規管要求
- ▶ 中藥組通過成立**工作小組**，就此議題作全面審視和提供意見，工作小組成員包括中醫藥業界代表及專家、化驗業界代表等



背景

- ▶ 工作小組就各項中藥材有害殘留物標準作詳細及充分討論後，提出以下建議：
 - 制定**霉菌毒素**限量標準 ←
 - 修訂**重金屬及有毒元素**限量標準
 - 修訂**農藥殘留量**限量標準
 - 廢除動物類及礦物類中藥材的農藥殘留量限量標準規限



背景-實施時間表

- 於**2021年12月15日**採納工作小組的建議，通過修訂本港中藥材有害殘留物限量標準及相關執行方案
- 以分階段及循序漸進形式推行**霉菌毒素**、**重金屬及有毒元素**、**農藥殘留量**限量標準相關的修訂。

霉菌
毒素

2022
年底

重金屬
及有毒
元素



2023
年底

農藥

2024/
2026
年底



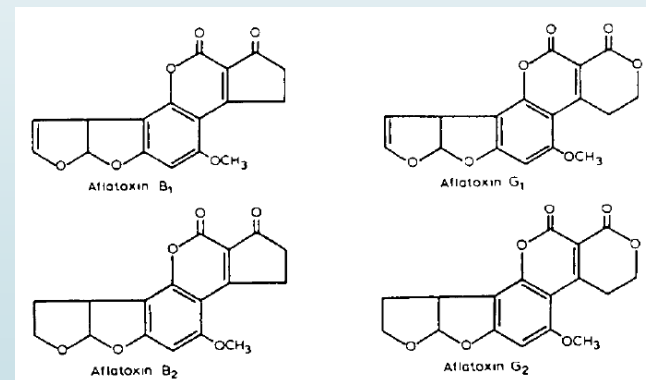
背景-實施時間表

黃曲霉毒素	
2021年12月	中藥組公布最終的標準及相關推行時間表 
2021年12月31日	廢除管委會對《條例》附表內動物類及礦物類中藥材的農藥殘留量限量要求 
2021年12月至 2022年12月	業界適應期（一年）
2022年12月31日起	執行附表內 <u>17種</u> 指定中藥材新增的黃曲霉毒素限量標準



霉菌毒素-來源及其毒性

- 霉菌毒素可在栽種或貯藏時產生，而且溫暖和潮濕的環境有利於霉菌毒素的產生
- 最常見為**黃曲霉毒素**，當中的**B₁**、**B₂**、**G₁**和**G₂**對人體的影響相對較大，**B₁**更是黃曲霉毒素中最強的致癌物
- 國際癌症研究機構指出**黃曲霉毒素**為第1組物質(會令人類致癌的物質)
- 聯合國糧食及農業組織 / 世界衛生組織聯合食品添加劑專家委員會亦建議應將**黃曲霉毒素**的攝入量降至盡可能低的水平



霉菌毒素-驗出事例

Kenya's ugali scare: How safe is your maize flour?

By Basillioh Mutahi
BBC News, Nairobi

15 November 2019



GETTY IMAGES

Several well-known brands of maize flour are off shelves in Kenya, after a warning about a substance known as aflatoxin.

US pet food recalled after 70 dogs die and others fall sick

14 January 2021



GETTY IMAGES

A US pet food manufacturer is recalling several of its products following the deaths of at least 70 dogs and illness in another 80.

Aflatoxin threat in Nepal, Bangladesh

Copyright: Mallika Aryal

Improperly stored crops, is a leading cause of liver cancer in Nepal and Bangladesh comparable to those in Kenya during a 2003 outbreak. Interventions can reduce aflatoxin levels, but are yet to be initiated.

Aflatoxin is produced by the fungus *aspergillus flavus* — a common crop pathogen. It is known to cause liver cancer. Aflatoxin B₁ prevails at unacceptably high levels in the diet of women in Nepal and Bangladesh, says a new study.

Improperly stored crops such as corn, maize, wheat, and millet, especially in conditions of high humidity, led to an outbreak of aflatoxin poisonings in Kenya that left 120 people dead.



霉菌毒素-驗出事例


国家药品监督管理局
 National Medical Products Administration

请输入关键字

索引号	JGXX-2020-10001	主题分类	监管信息 / 监督抽检信息
标题	上海市食品药品监督管理局2017年第7期药品监督抽检质量公告 (2017年11月24日)		
发布日期	2017-11-24		

上海市食品药品监督管理局2017年第7期药品监督抽检质量公告 (2017年11月24日)


国家药品监督管理局
 National Medical Products Administration

请输入关键字

索引号	JGXX-2020-10001	主题分类	监管信息 / 监督抽检信息
标题	总局关于9批次中药饮片不合格的通告 (2017年第137号)		
发布日期	2017-08-18		

总局关于9批次中药饮片不合格的通告 (2017年第137号)

发布时间: 2017-08-18

经重庆市食品药品检验检测研究院检验, 标示为亳州市沪淮药业有限公司等9家企业生产的9批次中药饮片不合格。现将相关情况通告如下:

- 一、经重庆市食品药品检验检测研究院检验, 标示为亳州市沪淮药业有限公司、江西百仁中药饮片有限公司、湖北远志药业股份有限公司、海南寿南山参业有限公司、四川千方中药饮片有限公司等企业生产的6批次远志不合格。不合格项目为黄曲霉毒素。
- 二、经重庆市食品药品检验检测研究院检验, 标示为北京同仁堂(亳州)饮片有限责任公司、河南聚仁中药饮片有限公司等企业生产的9批次远志(制远志)不合格。不合格项目为黄曲霉毒素(详见附件)。
- 三、对上述不合格中药饮片, 相关省(市)食品药品监督管理局已采取查封扣押等控制措施, 要求企业暂停销售使用、召回产品, 并进行整改。

国家食品药品监督管理总局要求相关单位所在地省(市)食品药品监督管理局对上述企业依据《中华人民共和国药品管理法》第七十三、七十四、七十五条等规定对生产销售不合格药品的违法行为进行立案调查, 三个月内公开对生产销售不合格药品相关单位的处理结果, 并及时报告相关情况。

在立案调查工作中, 企业对产品真实性有异议的, 可以向所在地省(市)食品药品监督管理局提出, 由当地省(市)食品药品监督管理局对企业生产销售情况进行调查核实, 并将情况通报被抽样单位所在地省(市)食品药品监督管理局。被抽样单位所在地省(市)食品药品监督管理局接到对不合格产品真实性异议的通报后, 要立即立案调查, 追溯产品来源。如确属标示生产企业生产的, 由相关省(市)食品药品监督管理局对生产企业从重处罚。

特此通告。

附件: 9批次不合格中药饮片名单

香港特別行政區政府 新聞公報

GovHK 香港政府一站通 简体版 English

食物安全中心呼籲市民停止食用被黃曲霉毒素污染的預先包

去



食物安全中心呼籲市民停止食用被黃曲霉毒素污染的預先包裝薑粉

食物環境衛生署食物安全中心(中心)今日(七月五日)呼籲市民不要食用一批印度生產, 並受黃曲霉毒素污染的預先包裝薑粉。業界如持有受影響產品, 應立即停止使用或出售。

產品詳情如下:

產品名稱: Organic Ginger Powder
 品牌: SpiceBox
 原產地: 印度
 分銷商: SpiceBox Organics Limited
 淨重: 每包五十克
 此日期前最佳: 二〇一九年三月三十日



霉菌毒素-執行方案

- ▶ 參考《中國藥典》的標準，對本港**17種**指定中藥材制定**黃曲霉毒素**限量標準



編號	中藥材	編號	中藥材	編號	中藥材
1.	檳榔	7.	柏子仁	13.	延胡索
2.	決明子	8.	遠志	14.	土鱉蟲
3.	水蛭	9.	使君子	15.	九香蟲
4.	肉豆蔻	10.	蜈蚣	16.	蜂房
5.	僵蠶	11.	全蠍	17.	生馬錢子
6.	桃仁	12.	胖大海		

#編號17為附表1內指明的毒性中藥材，其他為附表2內指明的香港常用中藥材。



霉菌毒素-執行方案

種子類



編號	中藥材	編號	中藥材	編號	中藥材
1.	檳榔	7.	柏子仁	13.	延胡索
2.	決明子	8.	遠志	14.	土鱉蟲
3.	水蛭	9.	使君子	15.	九香蟲
4.	肉豆蔻	10.	蜈蚣	16.	蜂房
5.	僵蠶	11.	全蠍	17.	生馬錢子
6.	桃仁	12.	胖大海		

#編號17為附表1內指明的毒性中藥材，其他為附表2內指明的香港常用中藥材。



霉菌毒素-執行方案

➡ 根類，果實類，根莖類



編號	中藥材	編號	中藥材	編號	中藥材
1.	檳榔	7.	柏子仁	13.	延胡索
2.	決明子	8.	遠志	14.	土鱉蟲
3.	水蛭	9.	使君子	15.	九香蟲
4.	肉豆蔻	10.	蜈蚣	16.	蜂房
5.	僵蠶	11.	全蠍	17.	生馬錢子
6.	桃仁	12.	胖大海		

#編號17為附表1內指明的毒性中藥材，其他為附表2內指明的香港常用中藥材。



霉菌毒素-執行方案

動物類，其他



編號	中藥材	編號	中藥材	編號	中藥材
1.	檳榔	7.	柏子仁	13.	延胡索
2.	決明子	8.	遠志	14.	土鱉蟲
3.	水蛭	9.	使君子	15.	九香蟲
4.	肉豆蔻	10.	蜈蚣	16.	蜂房
5.	僵蠶	11.	全蠍	17.	生馬錢子
6.	桃仁	12.	胖大海		

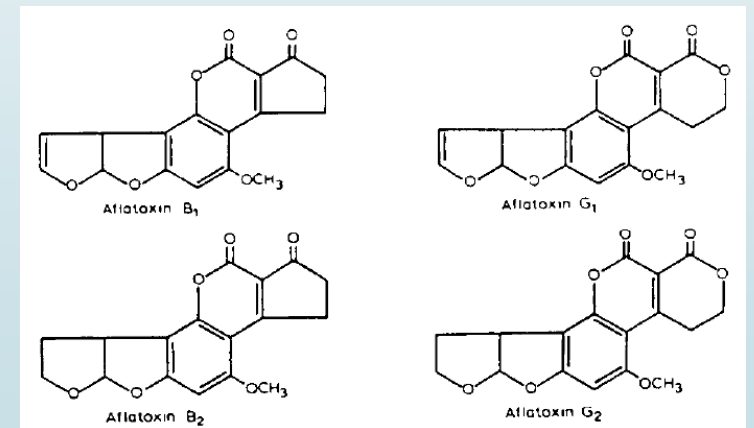
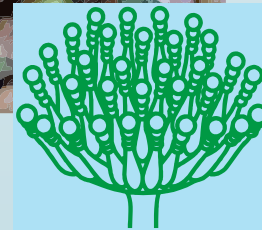
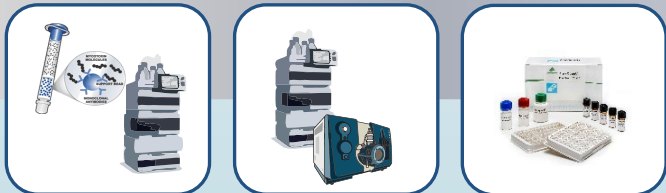
#編號17為附表1內指明的毒性中藥材，其他為附表2內指明的香港常用中藥材。



霉菌毒素-最高残留量

- 黄曲霉毒素 B_1 的最高残留量为 5 微克 / 公斤 (ppb)
- 总黄曲霉毒素 (B_1 、 B_2 、 G_1 及 G_2) 的最高残留量为 10 微克 / 公斤 (ppb)

5 微克(μg) = 0.000000005公斤(Kg)



霉菌毒素-測試方法



- 藥材或飲片
- 參考的測試方法: 《中國藥典》
2020年通則 2351 真菌毒素測定法

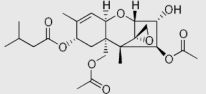
- 一、黃曲霉毒素測定法
- 二、赭曲霉毒素A 測定法
- 三、玉米赤黴烯酮測定法
- 四、嘔吐毒素測定法
- 五、展青黴素測定法
- 六、多種真菌毒素測定法

2351 真菌毒素測定法

本法适用于药材、饮片及中药制剂中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、展青霉素、伏马毒素 B₁、B₂ 及 T-2 毒素的测定。除另有规定外，按下列方法测定。

一、黄曲霉毒素测定法

本法系用液相色谱法和液相色谱-串联质谱法测定药材、饮片及中药制剂中的黄曲霉毒素(以黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₁ 和黄曲霉毒素 G₂ 总量计)。

中文名稱	英文名稱	化學結構
伏馬毒素B ₁	Fumomisin B ₁	
T-2 毒素	T-2 Toxin	
嘔吐毒素	Deoxynivalenol	
赭曲霉毒素A	Zearalenone	



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》 2020 年

✓ 參考的測試方法: 《中國藥典》 2020年 通則 2351 真菌毒素測定

方法	第一法	第二法	第三法																																				
方法	HPLC-FLD 	LC-MS/MS	酶聯免疫法 (Eliza Kit) + 酶標儀																																				
供試品溶液的製備	振搖提取; 免疫親合柱淨化 (Immunoaffinity Column); 採用柱後衍生法 ① 碘衍生法分析或 ② 光化學衍生法分析	和第一法的供試品 溶液製備相同 	溶劑提取 																																				
黃曲霉毒素	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>檢測限</td> <td>定量限</td> </tr> <tr> <td></td> <td>($\mu\text{g}/\text{kg}$)</td> <td>($\mu\text{g}/\text{kg}$)</td> </tr> <tr> <td>B₁</td> <td>0.5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>B₂</td> <td>0.2</td> <td>0.4</td> </tr> <tr> <td>G₁</td> <td>0.5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>G₂</td> <td>0.2</td> <td>0.4</td> </tr> </table>		檢測限	定量限		($\mu\text{g}/\text{kg}$)	($\mu\text{g}/\text{kg}$)	B ₁	0.5	1	B ₂	0.2	0.4	G ₁	0.5	1	G ₂	0.2	0.4	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>檢測限</td> <td>定量限</td> </tr> <tr> <td></td> <td>($\mu\text{g}/\text{kg}$)</td> <td>($\mu\text{g}/\text{kg}$)</td> </tr> <tr> <td>B₁</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>B₂</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>G₁</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>G₂</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> </tr> </table>		檢測限	定量限		($\mu\text{g}/\text{kg}$)	($\mu\text{g}/\text{kg}$)	B ₁	0.1	0.3	B ₂	0.1	0.3	G ₁	0.1	0.3	G ₂	0.1	0.3	備註: 1. 回收率 60-120 % 2. $r \geq 0.990$ 3. 超出標準曲線範圍時, 須對進行稀釋, 落入曲線範圍後再檢測。 4. 超出限度時, 採用第二法進行確認
	檢測限	定量限																																					
	($\mu\text{g}/\text{kg}$)	($\mu\text{g}/\text{kg}$)																																					
B ₁	0.5	1																																					
B ₂	0.2	0.4																																					
G ₁	0.5	1																																					
G ₂	0.2	0.4																																					
	檢測限	定量限																																					
	($\mu\text{g}/\text{kg}$)	($\mu\text{g}/\text{kg}$)																																					
B ₁	0.1	0.3																																					
B ₂	0.1	0.3																																					
G ₁	0.1	0.3																																					
G ₂	0.1	0.3																																					



霉菌毒素-測試方法簡介-中國藥典2020年

► 《中國藥典》2020年通則2351 第一法（液相色譜法）

供試品溶液的製備

- 約15 g樣品（過二號篩），加入氯化鈉及甲醇進行高速攪拌萃取並通過離心取得上清液
- 稀釋後用微孔濾膜濾過，通過**免疫親合柱**，用水洗脫
- 使空氣進入柱子，將水擠出柱子，再用適量甲醇洗脫收集洗脫液
- 並用甲醇溶解稀釋，以用於液相色譜儀分析



霉菌毒素-測試方法簡介- 《中國藥典》 2020 年

► 供試品溶液的製備與通則 2351 略有不同

- ✓ 樣本重量
- ✓ 攪拌時間
- ✓ 離心時間/速度
- ✓ 上清液體積

注意

編號	中藥材	編號	中藥材	編號	中藥材
1.	檳榔	7.	柏子仁	13.	延胡索
2.	決明子	8.	遠志	14.	土鱉蟲
3.	水蛭	9.	使君子	15.	九香蟲
4.	肉豆蔻	10.	蜈蚣	16.	蜂房
5.	僵蠶	11.	全蠍	17.	生馬錢子
6.	桃仁	12.	胖大海		

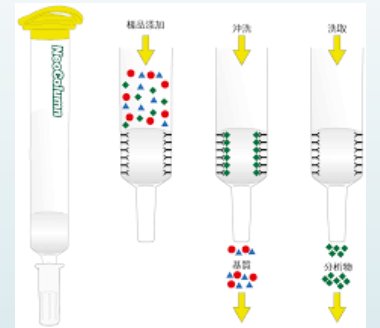


霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》 2020 年

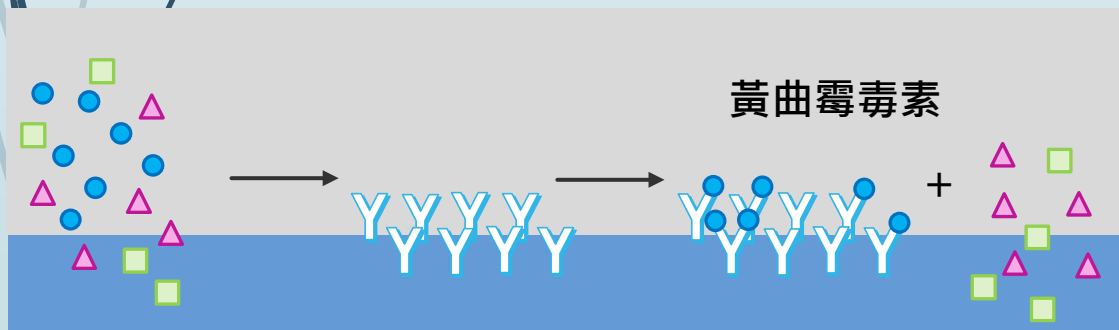
《中國藥典》 2020 年 通則2351 第一法（液相色譜法）

免疫親合柱淨化

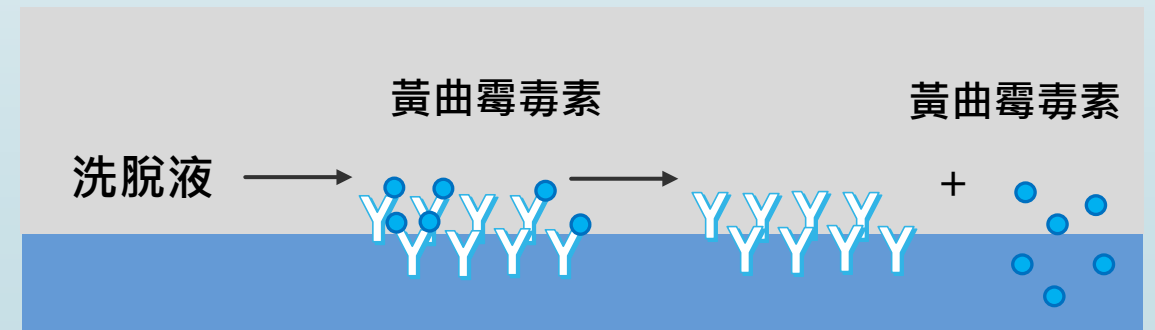
- 內含黃曲霉毒素B₁、B₂、G₁和G₂專有抗體
- 先用水後用甲醇洗脫
- 移除大部份干擾物



第 1 步：將樣品注入免疫親合柱



第 2 步：保留分析物並洗脫用作檢測



● 黃曲霉毒素 □ △ 干擾物 Y 專有抗體



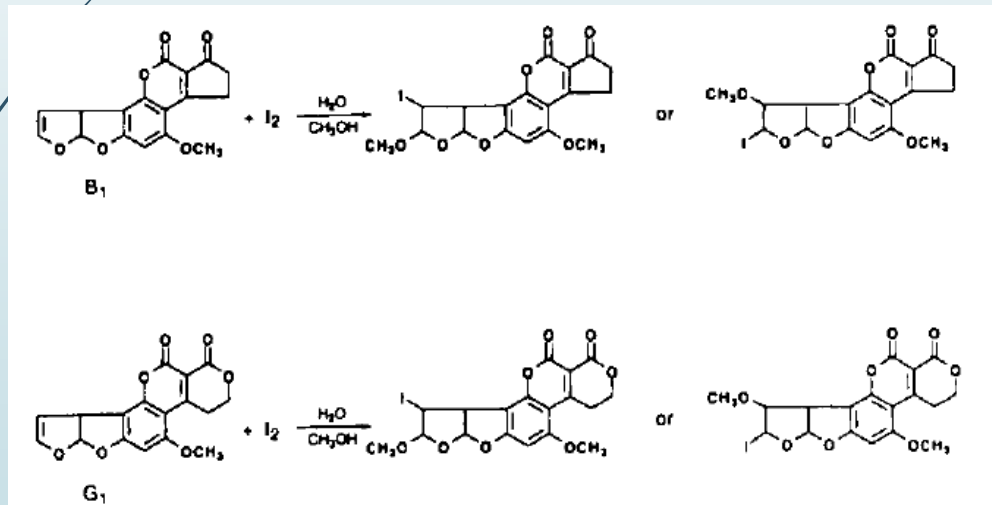
霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》 2020 年

- ▶ 《中國藥典》 2020 年 通則2351 第一法 (液相色譜法)
柱後衍生法(Post-column derivatization)
 - 碘衍生化 (Iodine derivatization)
 - 光化學衍生化 (Photochemical derivatization)



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》 2020 年

- 《中國藥典》 2020 年 通則2351 第一法 (液相色譜法)
柱後衍生法(Post-column derivatization)
 - 碘衍生化 (Iodine derivatization)



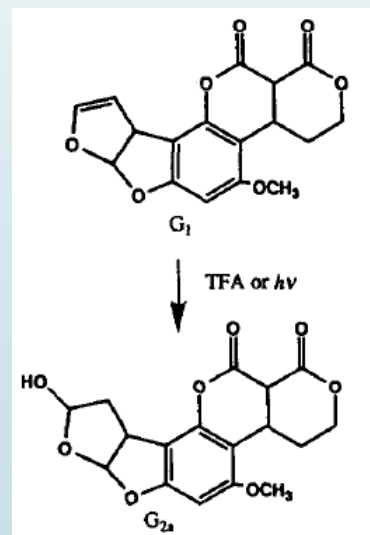
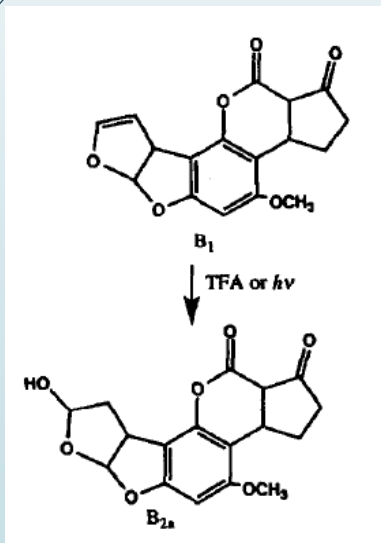
Proposed reactions of B1 and G1 with iodine
Ref: *Journal of Analytical Toxicology* **15** (1991) 289.

實驗條件	
流動相	: 蒸餾水/乙腈/甲醇 (3:1:1, v/v)
衍生溶液	: 0.05 % 碘溶液
流速	: 0.3 mL/min
溫度	: 70 °C
激發波長 (λ_{ext})	: 360 / 365 nm
發射波長 (λ_{em})	: 450 nm



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

- 《中國藥典》2020年通則2351第一法（液相色譜法）
柱後衍生法(Post-column derivatization)
- ▣ 光化學衍生化(Photochemical derivatization)



Photolysis reaction products of B1 and G1
Ref: *Journal of Chromatography A* **654** (1993) 247.

實驗條件

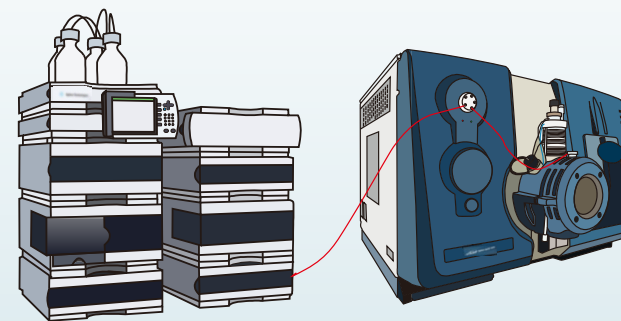
紫外光燈	:	254 nm
激發波長 (λ_{ext})	:	360 / 365 nm
發射波長 (λ_{em})	:	450 nm



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》 2020 年

► 《中國藥典》 2020 年 通則2351 第二法 (液相色譜串聯質譜法)

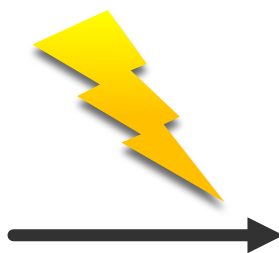
- 使用串聯質譜儀進行檢測
- 感應黃曲霉毒素的質量碎片
- 供試品溶液的製備同第一法一樣
- 省卻採用柱後衍生法



母離子 313.1



黃曲霉毒素



子離子 241.0



+



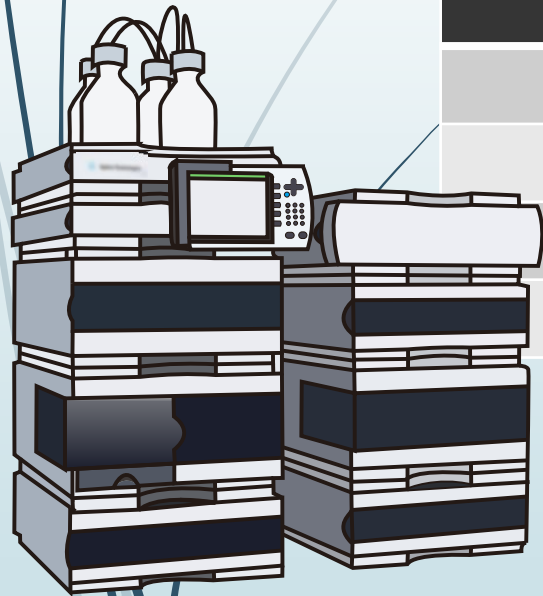
霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

第一法 (液相色譜法)

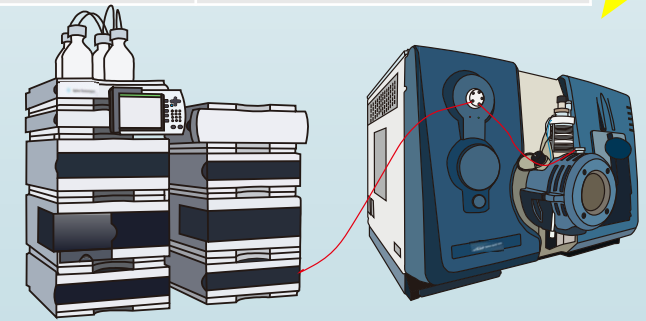
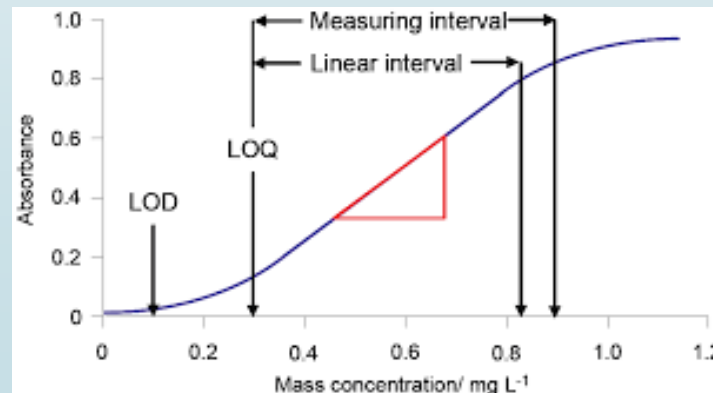
第二法 (液相色譜-串聯質譜法)

黃曲霉毒素	檢測限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	檢測限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
B ₁	0.5	1	0.1	0.3
B ₂	0.2	0.4	0.1	0.3
G ₁	0.5	1	0.1	0.3
G ₂	0.2	0.4	0.1	0.3

更靈敏



有效高效液相色譜儀



有效高效液相色譜串聯質譜儀



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

《中國藥典》2020年通則2351 第二法 (液相色譜-串聯質譜法)

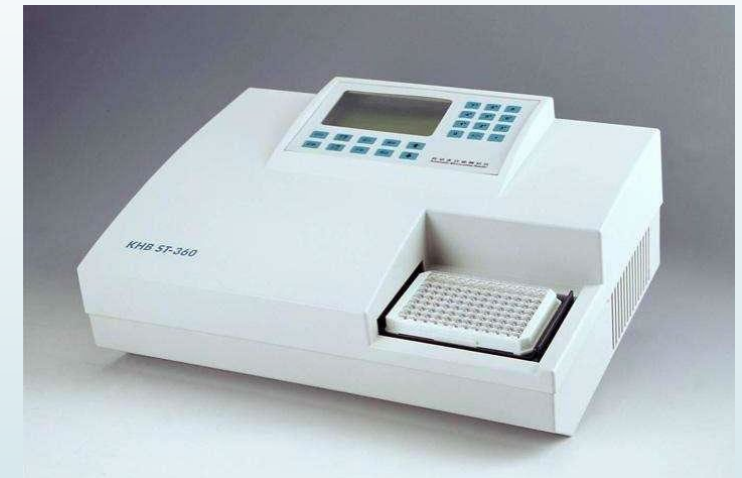
實驗條件		
流動相 A	: 10 mmol/L 醋酸铵溶液	
流動相 B	: 甲醇	
柱温	: 25 °C	
流速	: 0.3 mL/min	
時間 (min)	流動相 A (%)	流動相 B (%)
0 ~ 4.5	65 → 15	35 → 85
4.5 ~ 6	15 → 0	85 → 100
6 ~ 6.5	0 → 65	100 → 35
6.5 ~ 10	65	35

監測離子對、碰撞電壓 (CE) 參考值			
分析物	母離子	子離子	CE (V)
B ₁	313.1	241.0	50
	313.1	285.1	40
B ₂	315.1	259.1	35
	315.1	287.1	40
G ₁	329.1	243.1	35
	329.1	311.1	30
G ₂	331.1	313.1	33
	331.1	245.1	40



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

▶ 《中國藥典》2020年 通則2351 第三法（酶聯免疫法）



酶標儀



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

► 《中國藥典》2020年 通則2351 第三法（酶聯免疫法）

供試品溶液的製備

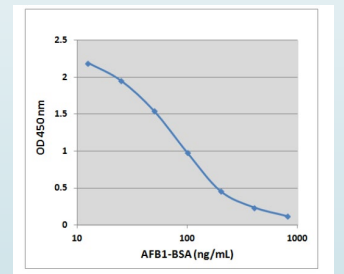
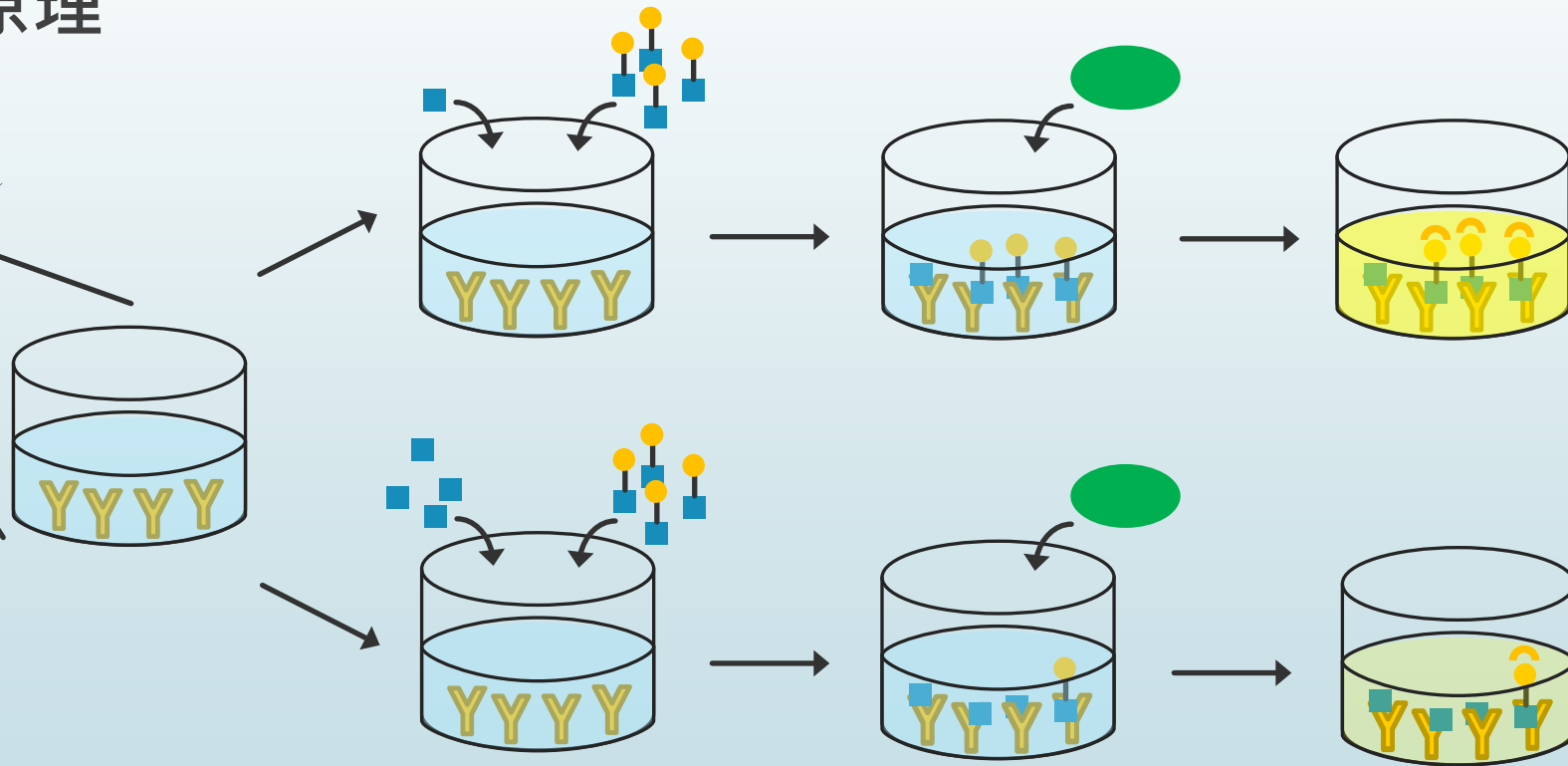
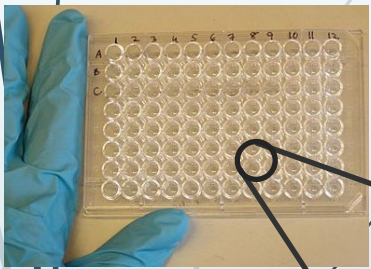
- 約2g樣品粉末，加入甲醇進行震盪萃取並通過離心取得上清液，並在氮氣下用約50～60度蒸發至乾
- 加入去離子水和三氯甲烷振盪，並通過離心取下層三氯甲烷液，置氮氣下用約50～60度蒸發至乾
- 加入正己烷和磷酸鹽緩衝液渦旋，通過離心取得下層液



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

《中國藥典》2020年 通則2351 第三法（酶聯免疫法）

原理



■ 黃曲霉毒素

■ 酶標抗原

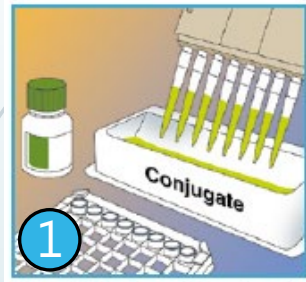
Y 專有抗體

● 底物顯色液

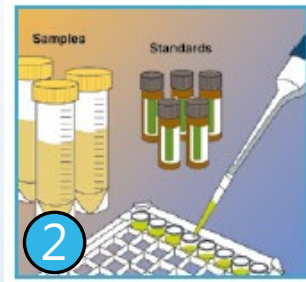


霉菌毒素-測試方法簡介- 《中國藥典》 2020 年

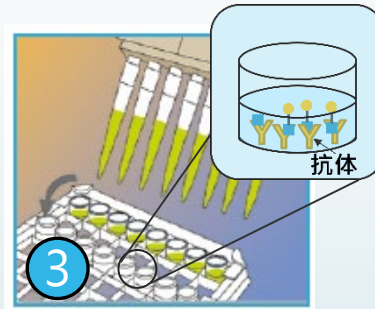
應用步驟



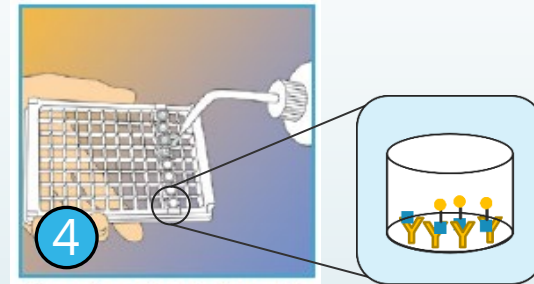
1 加酶標抗原



2 加樣品或標準品溶液



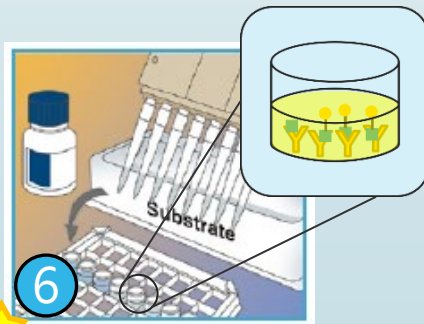
3 混勻和反應



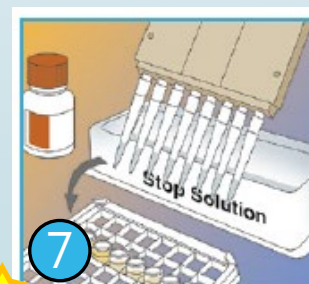
4 用清洗工作液清洗



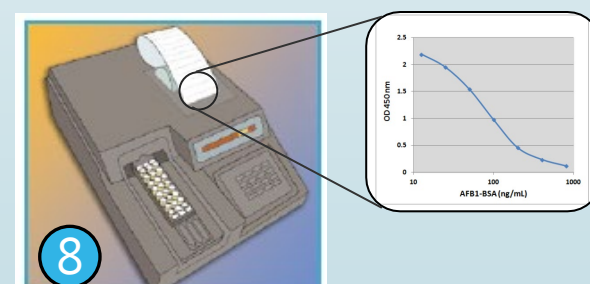
5 用紙巾拍乾



6 加底物顯色液反應



7 加終止液



8 酶標儀



霉菌毒素-測試方法簡介-《中國藥典》2020年

► 《中國藥典》2020年 通則2351 第三法（酶聯免疫法）

備注

- ❑ 測定前，另外的陰性樣本進行添加回收試驗，樣本回收率應在60~120%
- ❑ 線性回歸的相關係數應不低於0.990
- ❑ 供試品溶液百分吸光率超過標準曲線範圍時，應對已製備好的供試品溶液進行轉化，轉換成百分吸光率落入曲線範圍後再檢測
- ❑ 當測定結果超出限度時，採用第二法進行確認



霉菌毒素-測試方法簡介-香港中藥材標準

➤ 霉菌毒素（黃曲霉毒素）測定方法 附錄VII

□ 分析方法必須通過驗證並符合下列要求：

- ✓ 方法應適合於測定黃曲霉毒素，且不易受藥材提取物的干擾；
- ✓ 確定黃曲霉毒素的檢測限及定量限；
- ✓ 各個黃曲霉毒素的定量限設定為 $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；
- ✓ 加樣回收率應在50 – 120 % 範圍之內；
- ✓ 方法重複性的相對標準偏差應小於15 %；
- ✓ 儀器檢測的校對範圍應呈綫性反應。



實驗室方法的選擇

- ▶ 以適用性及性能準則作為基礎來選擇分析方法
- ▶ 首選國際的標準，例如中國藥典
- ▶ 也可以使用國際公認的分析方法來進行
- ▶ 利用這種基礎，實驗室將可以自由地使用最適合其設施的分析方法



選擇方法的準則

- ▶ 包括下列的性能特性，但不限於：
 - 適用性 (Applicability)
 - 最低應用範圍 (Minimum applicable range)
 - 準確度 (Accuracy) /真實度 (Trueness)
 - 檢測極限 (Limit of Detection) (LOD)
 - 定量極限 (Limit of Quantification) (LOQ)
 - 精確度 (Precision)
 - 回收率 (Recovery)



實驗室方法確認

- 建立測試方法的可靠度
- 根據國際共識的指引進行方法確認，例如：
 - Harmonized IUPAC Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis
 - EURACHEM Guide ‘The Fitness for Propose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics’
 - SANTA ‘Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed’



實驗室方法確認

- ▶ 證明數據的準確性，例如：
 - 參加能力驗證測試
 - 用經驗證標準品作檢測校正
 - 考查回收率
 - 與其他方法驗證

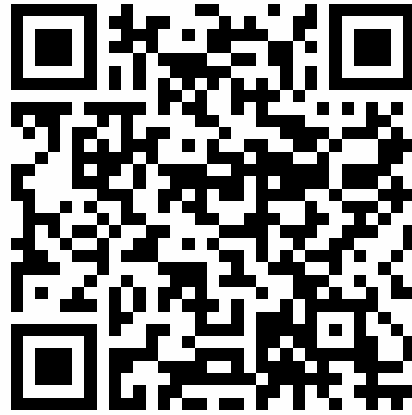


例如：

- Animal Feed (Cereal Based)
- Maize Flour
- Dried Figs



問卷的QR CODE 連結



謝謝

Thank you

