

黃麴毒素檢驗SOP實務訓練

莊松榮製藥廠有限公司

江淑端

July 20, 2012

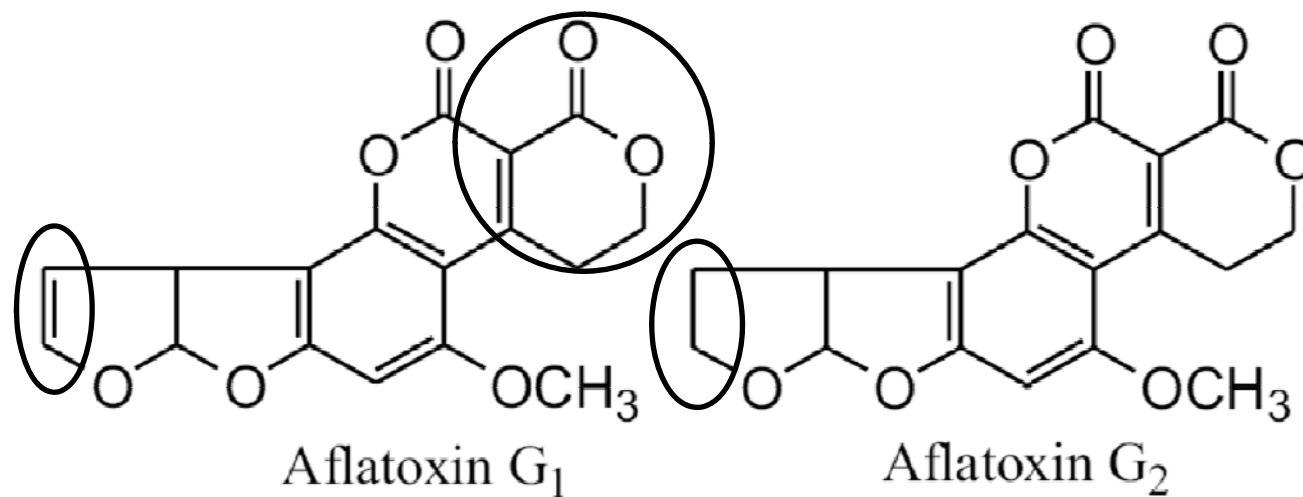
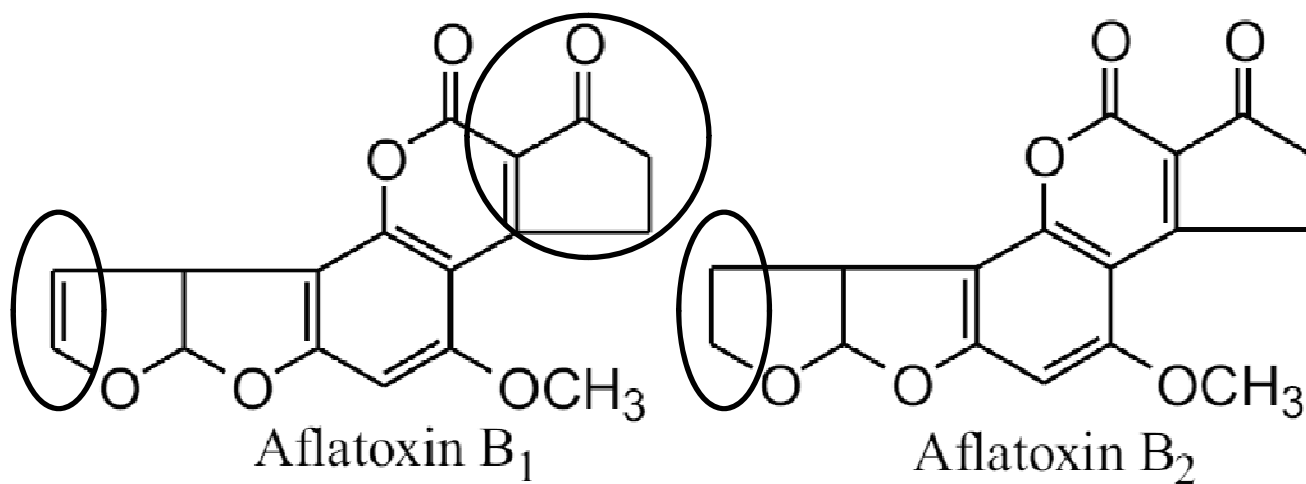
黃麴毒素-Aflatoxins

黃麴毒素主要是由屬於麴菌屬(*Aspergillus*)的黃麴菌(*A. flavus*)及寄生麴菌(*A. parasiticus*)這兩種真菌所產生的二級代謝產物 (secondary metabolites) 。目前已發現20多種。

黃麴毒素 (Aflatoxins) 的毒性和致癌性

黃麴毒素 種類	毒性 (LD ₅₀ , mg/kg)	相對 致癌性
B1	0.36	100
M1	約0.36	3
G1	0.78	3
B2	1.69	0.2
G2	2.45	0.1

黃麴毒素



黃麴毒素 (Aflatoxins)

■ Limit

	AFB ₁	AF(B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)
EU	≤2.0μg/kg	≤4.0μg/kg
TW		≤15μg/kg
USA	≤5.0μg/kg	≤20μg/kg

衛生署95.11.10.公告 __14種中藥材其黃麴毒素限量為15ppb
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、麴類中藥材、延胡索、橘皮、黃耆及蓮子等。.

分析方法

- 中華民國國家標準，CNS總號4090，類號N6097，食品中黃麴毒素檢驗方法，98年3月30日修訂。
(註：101年3月20日衛生署公告預告廢止)
- 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」
- European Pharmacopoeia 7.0, 2.8.18. Determination of Aflatoxin B₁ in Herbal Drugs, Page 244～245。(適用於devil's claw root, ginger, senna pods)

中華民國國家標準	食品中黃麴毒素檢驗法	總號	4 0 9 0
CNS		類號	N 6 0 9 7

Method of test for aflatoxins in foods

1. 適用範圍：本標準規定花生、玉米、其它穀類及其製品中黃麴毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 之檢驗，採用免疫親和管(immunoaffinity column)檢驗。

2. 原理：樣品經萃取、過濾、稀釋後，注入含有單株抗體之免疫親和管。此單株抗體對黃麴毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 等具有專一性。樣品中黃麴毒素經分離、純化且濃縮於免疫親和管上，再以甲醇將黃麴毒素自免疫親和管中洗下並收集純化液。若欲測黃麴毒素總量(total aflatoxins)，可用螢光判讀機(fluorometer)加以測定(SFB 法)。若欲測個別黃麴毒素之量(individual aflatoxins)，可用高效液相層析儀加裝螢光增強系統（第 3.1.1.3 節）加以分析。

3. 檢驗方法：免疫親和管法(immunoaffinity column)。

3.1 裝置

3.1.1 高效液相層析系統

3.1.1.1 偵檢器：螢光偵檢器(fluorescence detector)，具有 360 nm 激發波長及大於 420 nm 放射波長之螢光偵檢器。

3.1.1.2 層析管柱：RP-18，5 mm，內徑 4.6 mm，25 cm 或同級品，柱尾接螢光接收

3. 檢驗方法：免疫親和管法(immunoaffinity column)。

3.1 裝置

3.1.1 高效液相層析系統

3.1.1.1 偵檢器：螢光偵檢器(fluorescence detector)，具有 360 nm 激發波長及大於 420 nm 放射波長之螢光偵檢器。

3.1.1.2 層析管柱：RP-18，5 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 25 cm 或同級品；依層析需要將管柱控溫於 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

3.1.1.3 螢光增強系統：後衍生化系統(post-column derivatization system; PCD)需第二組 LC 幫浦推動碘液，再加上 T 形閥、610 cm $\times$ 0.5 mm 內徑之鐵氟龍管做為反應線圈及 70 $^{\circ}\text{C}$ 恆溫槽；或光化學反應器(photochemical reactor enhanced detection; PHRED)，可使用美國 Aura 工業公司製造之 KRC 25-25 之光化學反應器或同級品，其構造係將長 25 m 之聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene；簡稱 PTFE)材質細管(1/16 inch OD $\times$ 0.25 mm ID)編織成長方形並固定於具 254 nm 紫外線照射的不透光燈盒內，使得黃麴毒素 B₁、G₁ 流經此管中時轉變成 B_{2a}、G_{2a}。

3.1.2 免疫親和管：內含對黃麴毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 具有專一性之抗體，可採用 aflaTest-P 管柱(Vicam: semerville U.S.A)或同級品。

3.1.3 螢光判讀機收集管(fluorometer cuvet)：12 mm $\times$ 75 mm 玻璃試管。

3.1.4 螢光判讀機(fluorometer)：360 nm 激發波長及 450 nm 放射波長，可採用美國 Vicam 公司產製之 SERIES-4 或同級品。



中華民國 101 年 3 月 20 日

行政院衛生署公告

署授食字第 1011900099 號

預告廢止

主 旨：廢止九十八年八月十三日署授食字第○九八一八○○二八八號公告指定之中華民國國家標準（CNS）總號四○九○類號 N 六○九七食品中黃麴毒素檢驗法等十六種中華民國國家標準為食品衛生檢驗方法。

依 據：行政程序法第一百五十一條第二項準用第一百五十四條第一項。

公告事項：

- 一、廢止機關：行政院衛生署。
- 二、廢止依據：食品衛生管理法第二十五條。
- 三、因本案已研擬公告替代之檢驗方法，並同步辦理替代檢驗方法之公告程序，另「食品中黃麴毒素檢驗法」、「食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析法(II)」及「食品中殘留農藥檢驗方法—殺草劑殺丹之檢驗」已有本署公告方法，故擬辦理公告廢止事宜。
- 四、原檢驗方法一覽表如附件。本案另載於行政院衛生署網站（網址：<http://www.doh.gov.tw>）之網頁及行政院衛生署食品藥物管理局網站（網址：<http://www.fda.gov.tw>）之「本局公告」網頁。
- 五、對於本公告內容有任何意見或修正建議，請於本公告刊登公報之次日起 20 日內陳述意見或洽詢：

（一）承辦單位：行政院衛生署食品藥物管理局

廢止公告指定 CNS 為食品衛生檢驗方法一覽表

序號	總號	類號	標準名稱
1	4090	N6097	食品中黃麴毒素檢驗法
2	5629	N6120	食品檢驗法－異物之檢查
3	8052	N6159	食品中組織胺檢驗法
4	10888	N6184	食品中亞硝酸鹽之檢驗法
5	10889	N6185	食品中色素之檢驗法
6	10890	N6186	食品微生物之檢驗法－生菌數之檢驗
7	10893	N6189	食品中殺菌劑之檢驗法（過氧化氫之檢驗）
8	10949	N6190	食品中防腐劑之檢驗法
9	10950	N6191	食品中人工甘味劑之檢驗法
10	10984	N6194	食品微生物之檢驗法－大腸桿菌群之檢驗
11	12539	N6211	食品微生物檢驗法－病原性大腸桿菌之檢驗
12	12540	N6212	食品微生物檢驗法－仙人掌桿菌之檢驗
13	13434	N6272	包裝飲用水中食品微生物之檢驗法－綠膿桿菌之檢驗
14	13435	N6273	包裝飲用水中食品微生物之檢驗法－糞便性鏈球菌之檢驗
15	13570-2	N6276-2	食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析法(M)

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 B₁、B₂、G₁ 及 G₂ 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 μ m, 內徑 4.6 mm $\times$ 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)。

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

- 附註：1. 本檢驗方法之檢出限量，黃麴毒素 B₁ 為 0.2 ppb、黃麴毒素 B₂ 為 0.1 ppb、黃麴毒素 G₁ 為 0.2 ppb 及黃麴毒素 G₂ 為 0.1 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
3. 以本檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS 等進行確認。
4. 黃麴毒素之檢驗可依行政院衛生署公告指定中華民國國家標準(CNS)總號 4090 類號 N6097 食品中黃麴毒素檢驗法或本檢驗方法，惟檢驗結果有爭議時，應以本檢驗方法為準。

2.8.18. DETERMINATION OF AFLATOXIN B₁ IN HERBAL DRUGS

CAUTION: aflatoxins are very toxic and carcinogenic. Perform manipulations under an extraction hood whenever possible. Take particular precautions, such as use of a glove box, when toxins are in dry form because of their electrostatic properties and the tendency to disperse through the working areas. Decontamination procedures for laboratory wastes of aflatoxins were developed by the International Agency for Research on Cancer (IARC).

- Aflatoxins are naturally occurring mycotoxins produced mainly by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. These fungi are common and widespread in nature and are most often found when certain grains are grown under conditions of stress such as drought. The mould occurs in soil, decaying vegetation, hay, and grains undergoing microbial spoilage, and invades all types of organic substrates whenever and wherever the conditions are favourable for its growth. Favourable conditions include high moisture content and high temperature. At least 13 different types of aflatoxin are produced in nature and most of these are known to be highly toxic and carcinogenic. Aflatoxin B₁ is considered the most toxic. Herbal drugs that are subject to contamination by aflatoxins are tested by a validated method.

Unless otherwise indicated in the monograph, herbal drugs contain not more than 2 µg/kg of aflatoxin B₁. The competent authority may also require compliance with a limit of 4 µg/kg for the sum of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂.

Aflatoxin	Limit
B ₁	2 µg/kg
sum of B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	4 µg/kg

The method described below is cited as an example of a method that has been shown to be suitable for devil's claw root, ginger and senna pods. Its suitability for other herbal drugs must be demonstrated or another validated method used.

METHOD

Liquid chromatography (2.2.29).

Aflatoxins are subject to light degradation. Carry out the determination protected from daylight by using UV-absorbing foil on windows in combination with subdued light, or curtains or blinds in combination with artificial light (fluorescent tubes are acceptable). Protect aflatoxin-containing solutions from daylight.

Rinse glassware before use with a 10 per cent V/V solution of *sulfuric acid R* and then rinse carefully with *distilled water R* until no more acid is present.

Test solution. Use an immunoaffinity column containing antibodies against aflatoxin B₁ with a capacity of not less than 100 ng of aflatoxin B₁ and which gives a recovery of not less than 80 per cent when a solution of 5 ng of aflatoxin B₁ in a mixture of 12.5 mL of *methanol R* and 87.5 mL of *water R* is passed through. Allow the immunoaffinity column to reach room temperature. To 5.00 g of the powdered drug (500) (2.9.12) add 100 mL of a mixture of 30 volumes of *water R* and 70 volumes of *methanol R* and extract by sonication for 30 min. Filter through folded filter paper. Pipette 10.0 mL of the clear

Aflatoxin B₁ standard solution
250 µg/mL
at room temperature
each disc

S

檢品量取 5 g

Calibration solution
B₁ standard solution
1.8 µg/mL
for liquid chromatography
must be used

http://www.dh.gov.hk/english/main/main_cm/files/vol4/main
 衛生署: 主要服務範圍
 香港中藥材標準第四...

Google
 搜尋... 更多設定
 Shu Tuan Chian...

Hong Kong Chinese Materia Medica Standards
 香港中藥材標準

English 中文 Volume 4 第四冊



2 Window...
 中藥汚偽物質...
 中藥材汚偽物...
 香港中藥材標...
 香港中藥材標...
 下午 01:54

附錄 VII 霉菌毒素(黃曲霉毒素)測定方法

霉菌毒素包括黃曲霉毒素，是指霉菌或真菌產生的毒性代謝產物。藥材可能會受黃曲霉毒素污染，應用本法測定藥材中黃曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 的含量。

方法

(1) 黃曲霉毒素測定法 — 所選分析方法必須通過驗證並符合下列要求：

- (a) 方法應適應於擬測定黃曲霉毒素，且不易受藥材提取物的干擾；
- (b) 確定擬測定黃曲霉毒素的檢測限及定量限；
- (c) 各個黃曲霉毒素的定量限設定為 0.3 µg/kg；
- (d) 加樣回收率應在 50 – 120% 範圍之內；
- (e) 方法重覆性其相對標準偏差應小於 15%；
- (f) 儀器檢測的校對範圍應呈綫性反應。

分析方法確效

1. 專一性
2. 檢測極限、定量極限
3. 準確性
4. 精密性
5. 綫性及範圍

- 
- (2) 試劑 — 分析所用的試劑須為分析純或等同。所用甲醇及乙腈須為色譜純或以上。
- (3) 容器 — 所有容器須清洗後方可使用，以確保無黃曲霉毒素的污染。容器可用 10% 家用漂白水浸泡至少 12 小時後，再用蒸溜水沖洗。
- (4) 樣品製備 — 藥材樣品必須先粉碎。如需要，磨碎前可先將藥材切碎。在可行的情況下，取樣量應不少於測試用量之五倍。
- (5) 操作程序 — 本方法依據黃曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 經碘衍生化，並經紫外線激發後，測定其熒光強度。個別藥材樣品操作程序可適當修改。
- (a) 提取 — 取樣品粉末 15.0 g，加氯化鈉 3 g 和 70% 甲醇 75 mL，充分攪勻約 2 分鐘後，離心約 10 分鐘。測定提取液酸鹼值。精密吸取上清液 15 mL [附註 1] 置黃棕色小瓶中，於 60 °C 水浴上用氮氣將溶劑揮發至約 5 mL。依據免疫親和柱說明書的要求，在濃縮提取液中加適用於免疫親和柱的溶劑至 50 mL [附註 2]，離心約 10 分鐘後，用玻璃纖維濾紙抽濾，收集濾液，作為供試品溶液。

附註 1：如提取液被樣品吸收使所得上清液少於 40 mL，則應按上法重新提取，改用氯化鈉 5.0 g 和 70% 甲醇 125 mL 提取，並改為取上清液 25 mL。

附註 2：如樣品處理所得的提取物會影響免疫親和柱的功能，應以免疫親和柱說明書要求適當處理。特別注意免疫親和柱酸鹼度的操作範圍要求和在淨化前選用合適的溶劑稀釋提取物。

(b) 以免疫親和柱淨化供試品溶液 —

此色譜淨化步驟可選用：

- 免疫親和柱：內含黃曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 專有抗體；
- 洗脫液：甲醇。

免疫親和柱的操作要求 — 將適當容量的黃曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 標準混合溶液通過免疫親和柱，並根據下述「淨化供試品溶液」程序處理，回收率應分別不少於 90%、80%、90% 和 60%。

淨化供試品溶液 [附註 3] — 依據說明書，先將免疫親和柱預調，以流速 3 mL/min 通過定量的供試品溶液。依說明書所建議的沖洗液 (10 mL) 沖洗該柱 (流速 3 mL/min)，再用 10 mL 空氣將柱沖乾。先用 1.5 mL 甲醇洗脫，再以 10 mL 空氣沖柱，完全收集洗脫液置 2-mL 量瓶中，然後加水至刻度。

附註 3：免疫親和柱的淨化程序可因應個別不同牌子作出適當改動，請依說明書指引。

經濟部標準檢驗局公告（中華民國101年7月5日 經標二字第10120006930號）

主旨：訂定「應施檢驗中藥材商品之相關檢驗規定」，

並自中華民國一百零一年八月一日生效。



- 受理報驗地點：行政院衛生署食品藥物管理局。
- 檢驗項目及標準係依行政院衛生署中醫藥委員會指定。
- 檢驗方法：
 - － 93年版中華中藥典重金屬檢查法。
 - － 93年版中華中藥典重金屬（鎘、鉛、銅、汞及砷）測定法。
 - － 食品中殘留農藥檢驗方法－多重殘留分析法Ⅱ（CNS 13570-2，88年8月4日公布）。
 - － 食品中黴菌毒素檢驗方法－黃麴毒素之檢驗（行政院衛生署99年10月15日署授食字第0991903564號公告）。

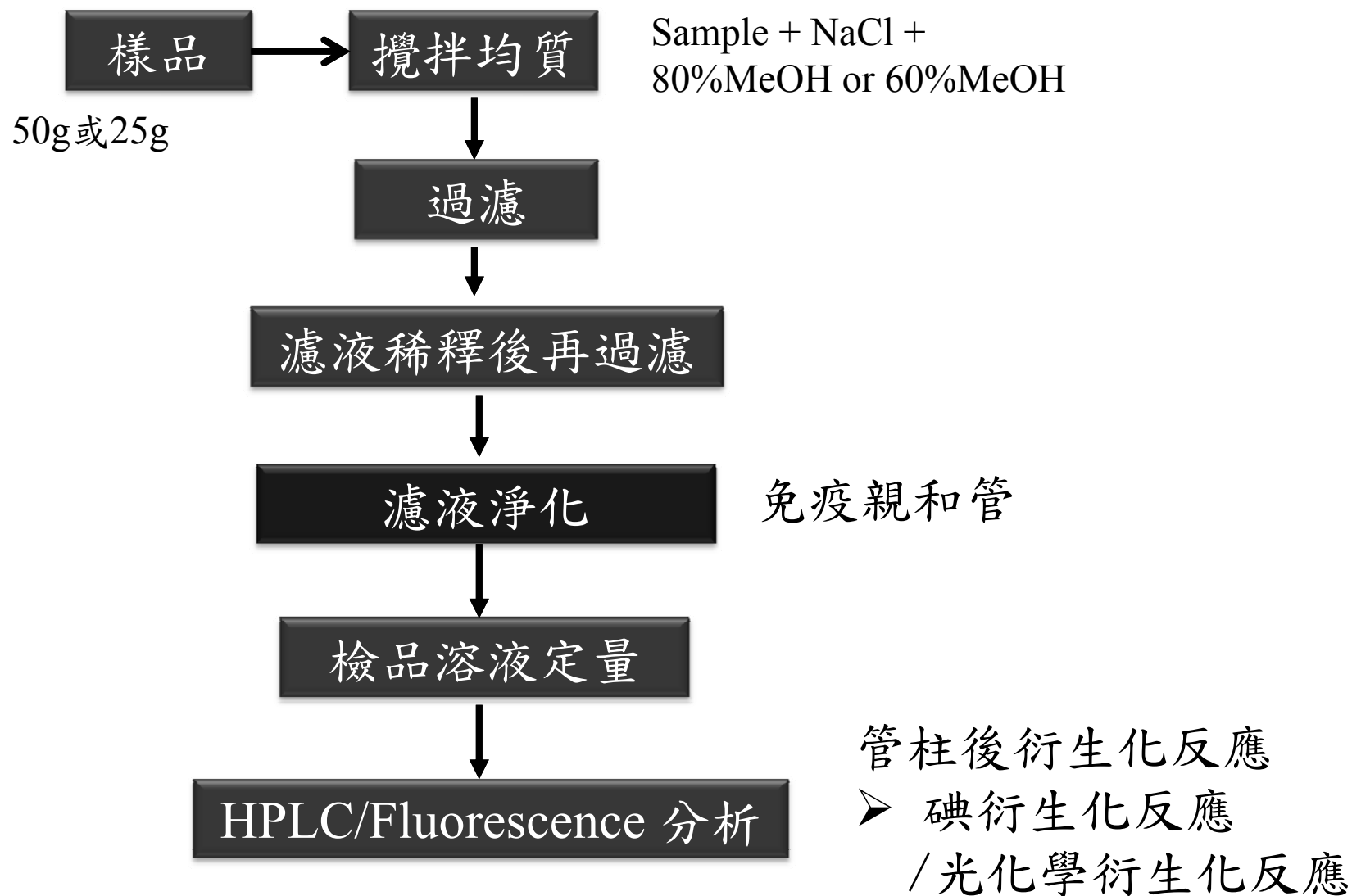
10項邊境管制中藥材檢驗標準



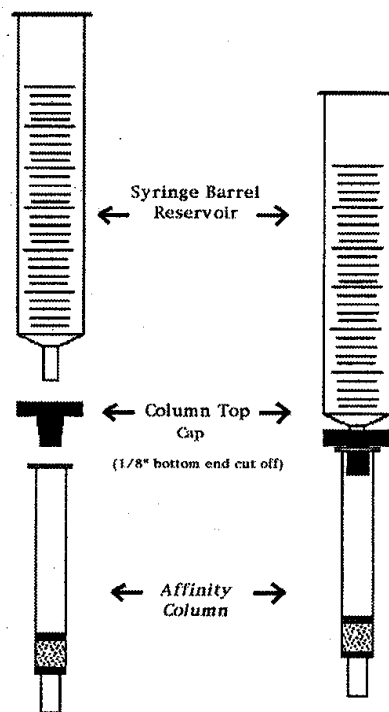
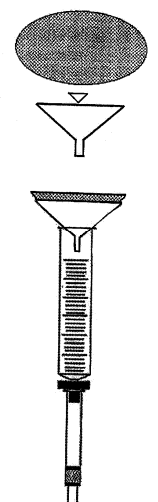
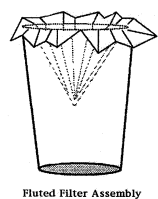
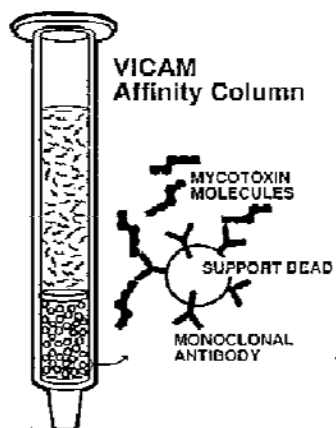
藥材	Heavy metal	Pb	Cd	Hg	As	Cu	Aflatoxins	BHT	DDT	PCNB
紅棗							15 ppb	0.2	0.2	
杜仲		30	2	2						
茯苓	10				5					
川芎	10				5					
白朮					5					
白芍	10	5	0.3	0.2	2	20				
地黃	10				5					
黃耆	10	5	0.3	0.2	2	20	15 ppb	0.9	1.0	1.0
甘草	30	5	0.3	0.2	2	20		0.9	1.0	1.0
當歸	10				5					

單位：ppm

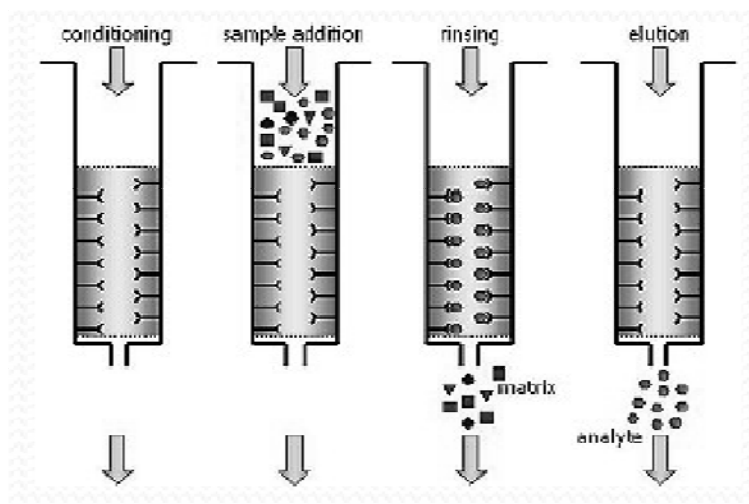
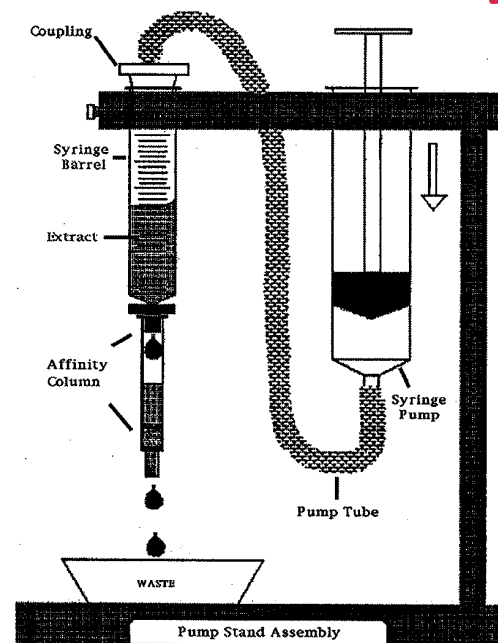
黃麴毒素分析流程



以免疫親和管 進行淨化處理

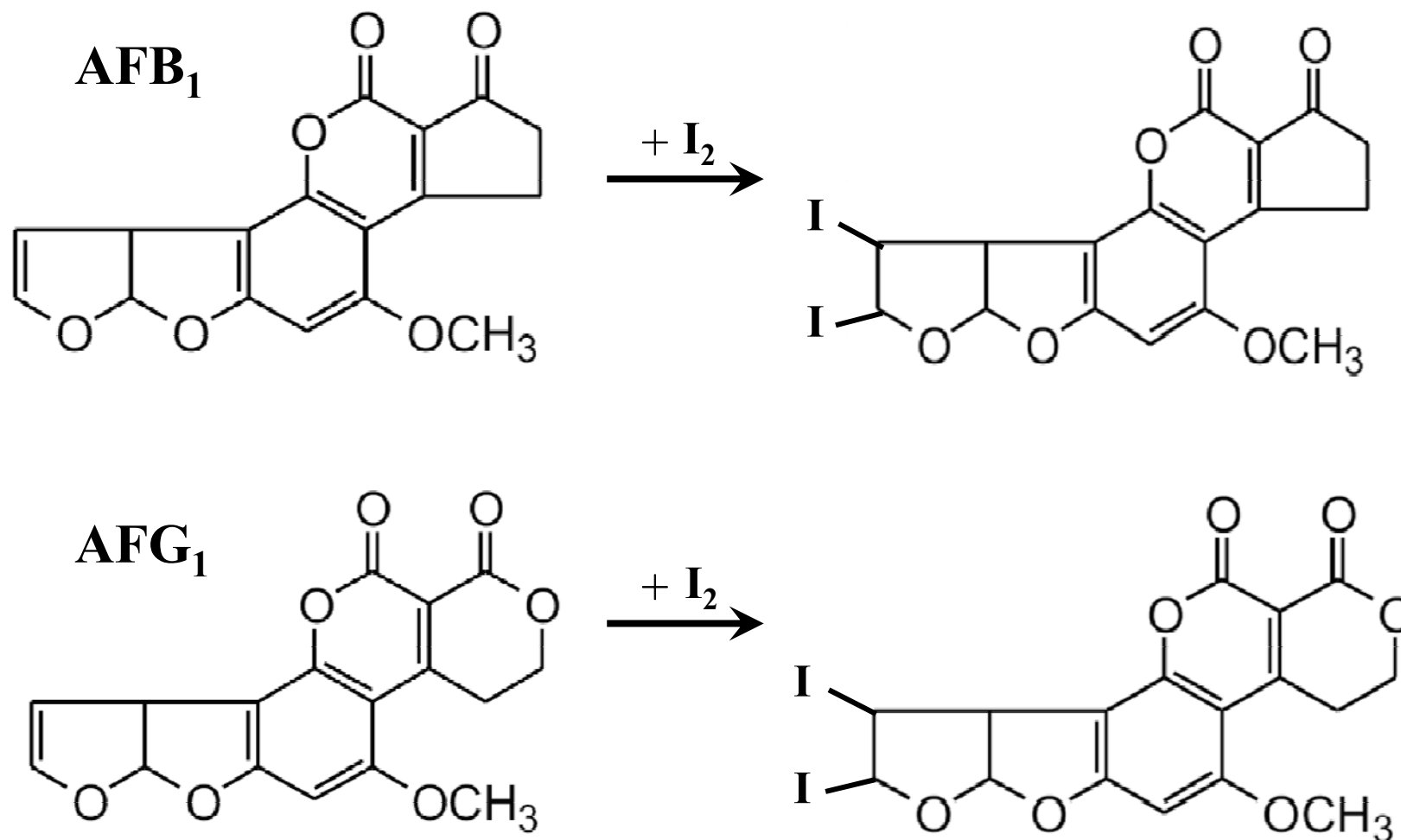


Affinity Column Syringe Barrel Connection

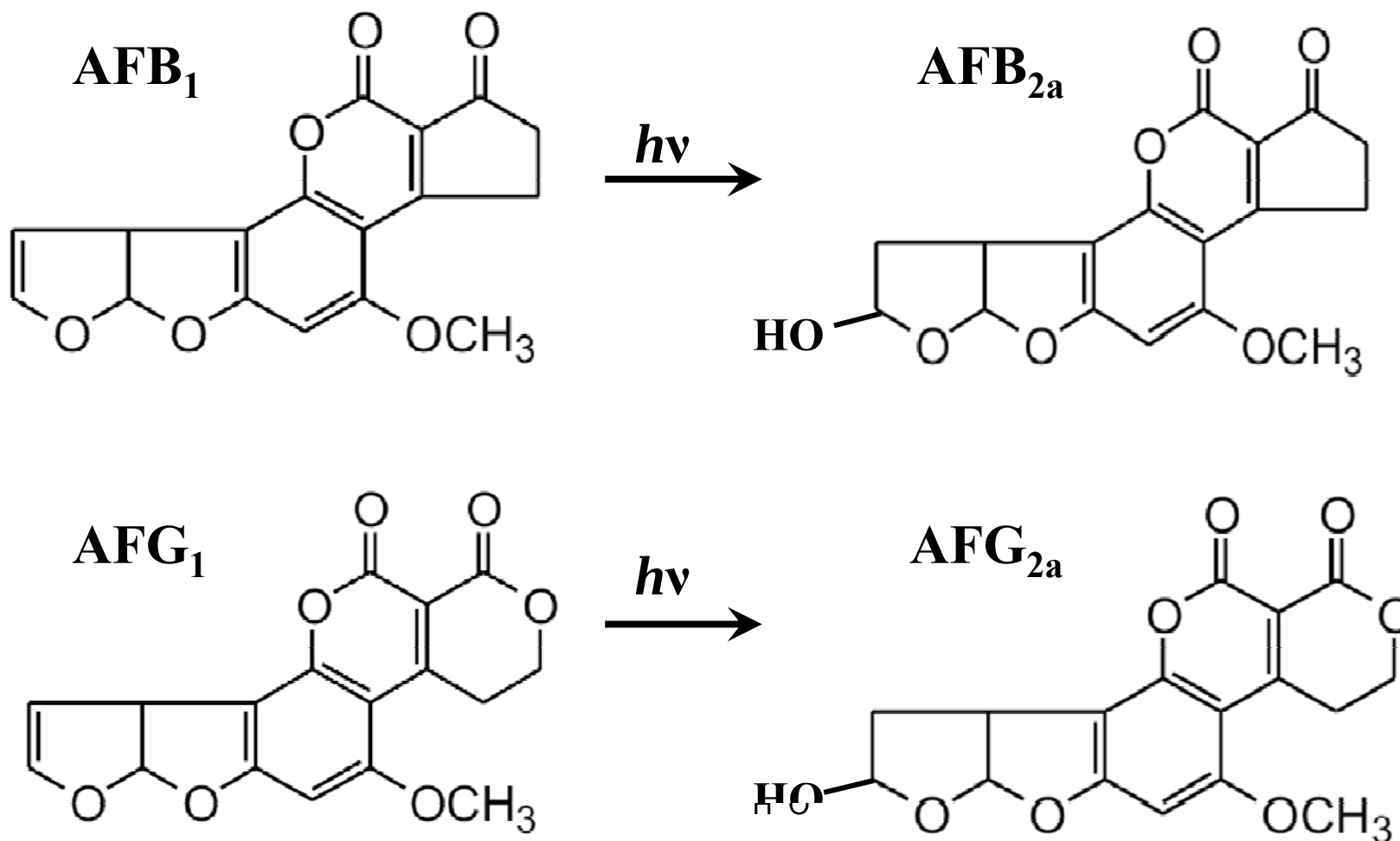


1873

管柱後碘衍生化反應



管柱後光化學衍生化反應





檢品精秤

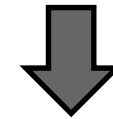
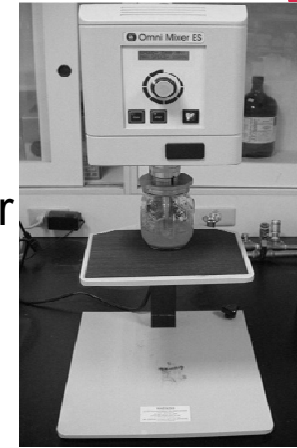


加入氯化鈉和溶劑

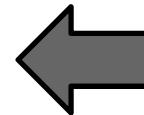


攪拌均質

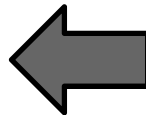
or



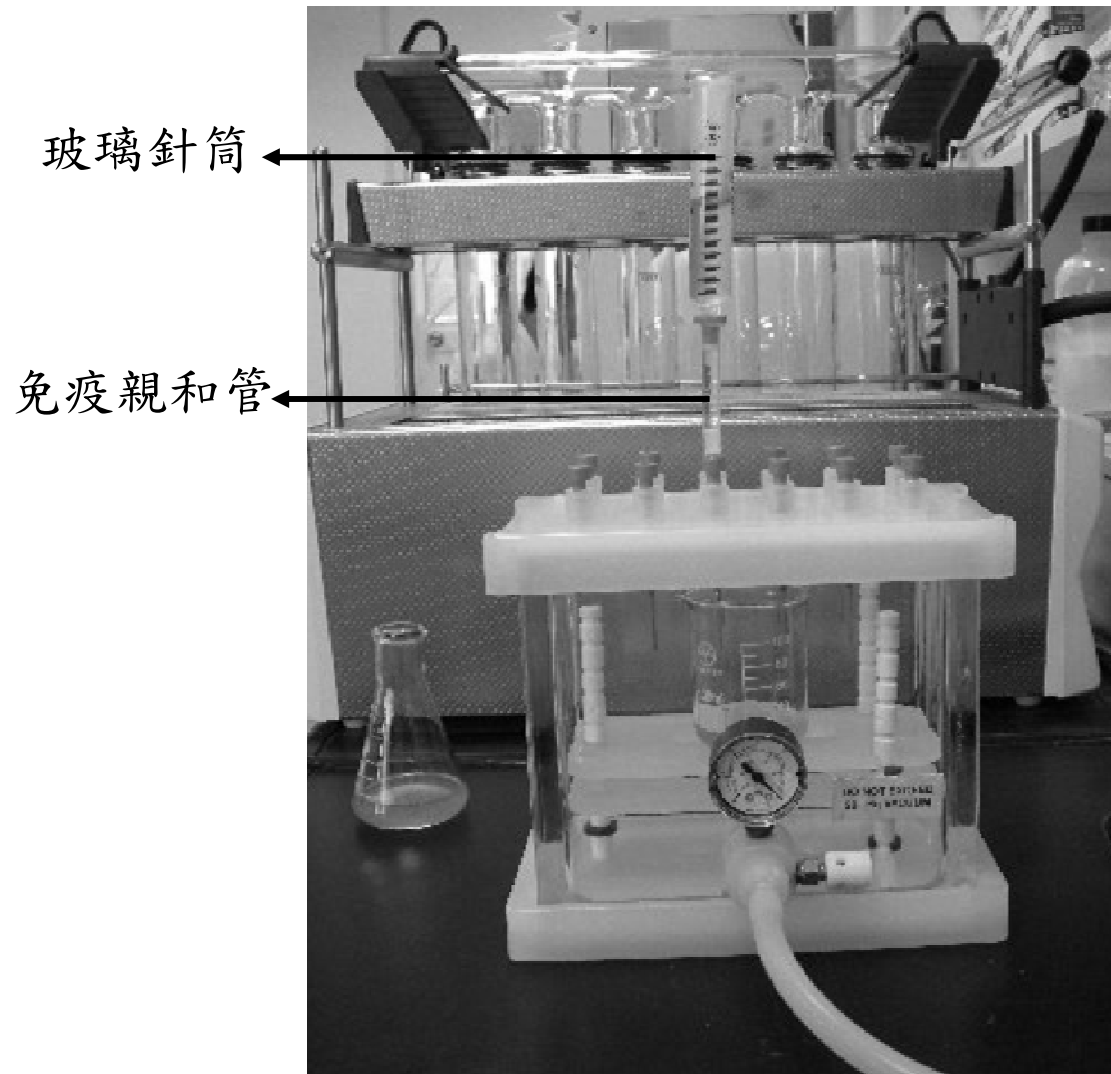
過濾



取濾液稀釋後，再以玻璃濾紙過濾

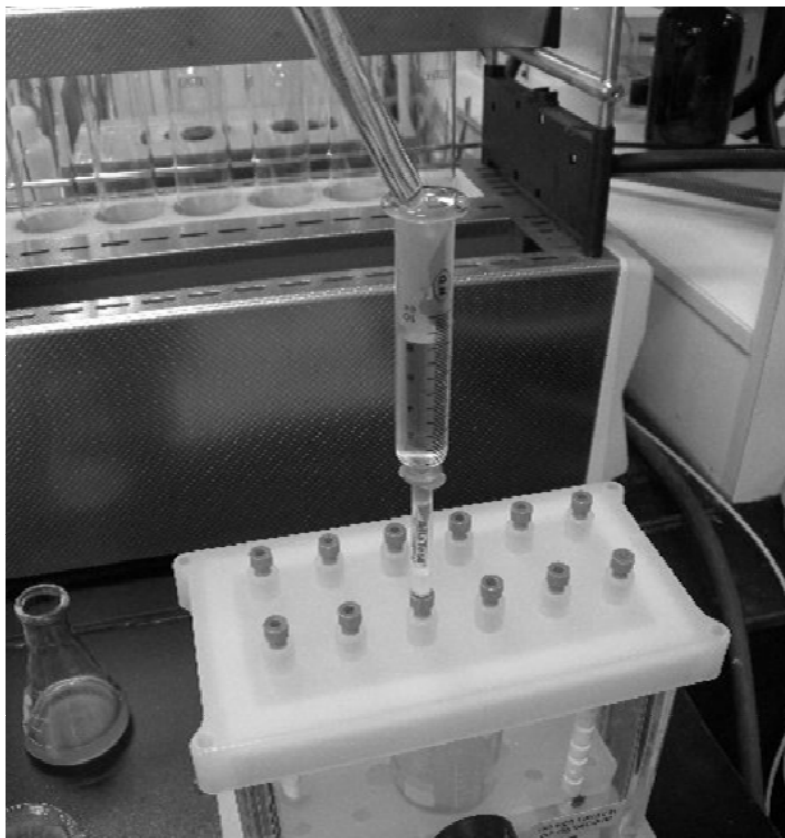


取濾液
進行淨化



淨化步驟-I

1. 取免疫親和管連接玻璃針筒，
2. 取檢液置於玻璃針筒內，
3. 使檢液約以每秒1滴之速度通過免疫親和管



淨化步驟-II

當檢液完全通過免疫親和管後，取10 mL純水清洗免疫親和管，並重複兩次。

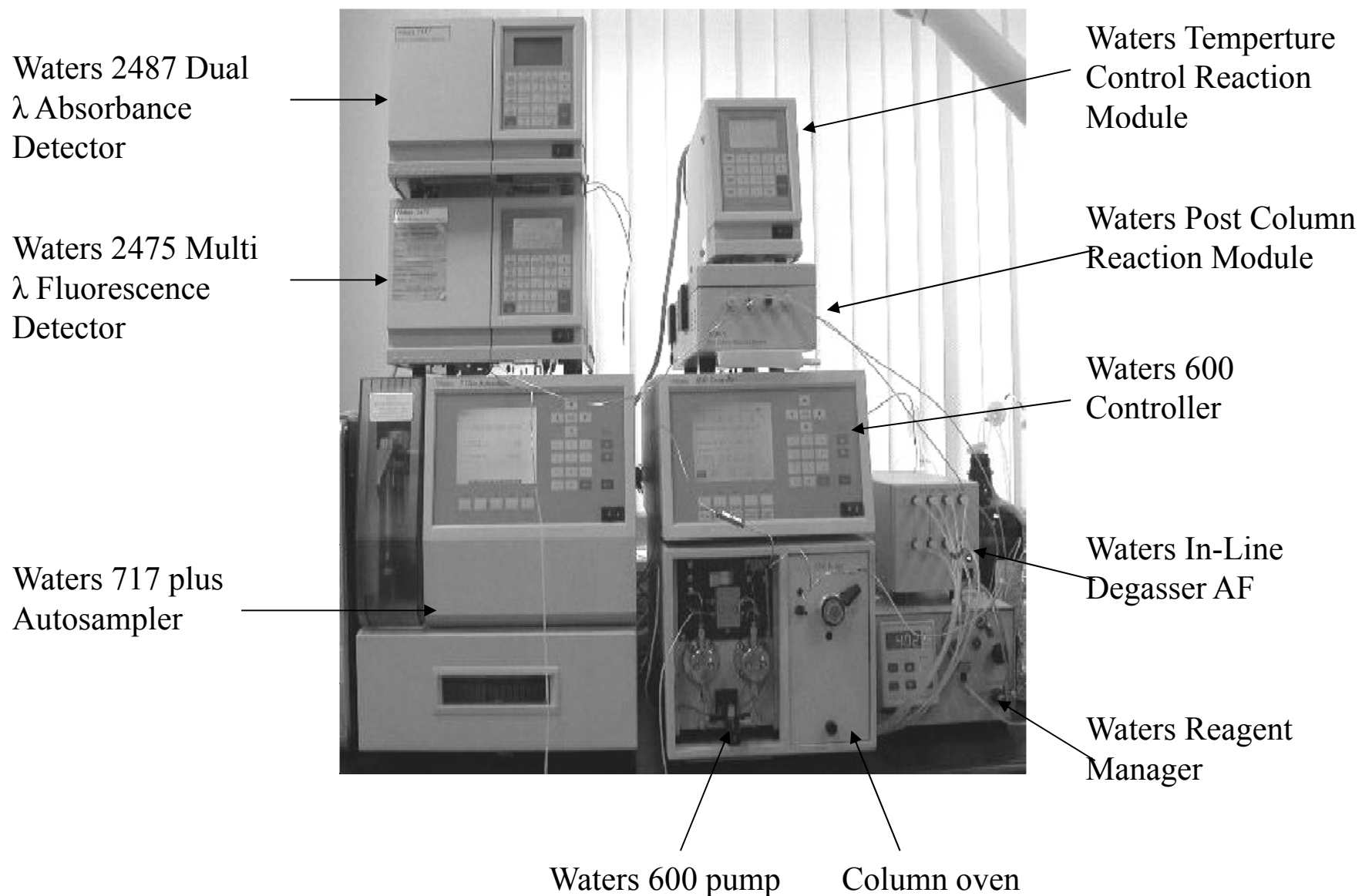
淨化步驟-III

最後取1.0 mL甲醇，以相同流速通過免疫親和管，並收集於玻璃試管中，再以甲醇定量至2.0 mL。



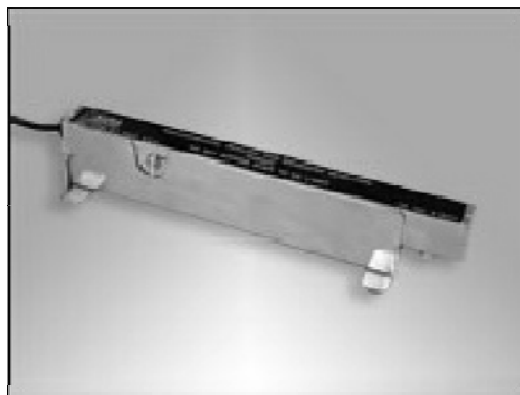
淨化液以濾膜過濾，即為檢品溶液，以HPLC進樣分析

分析儀器

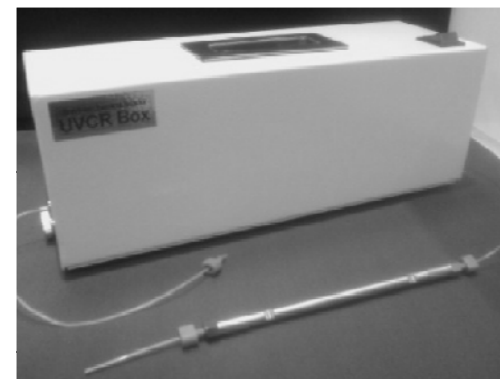


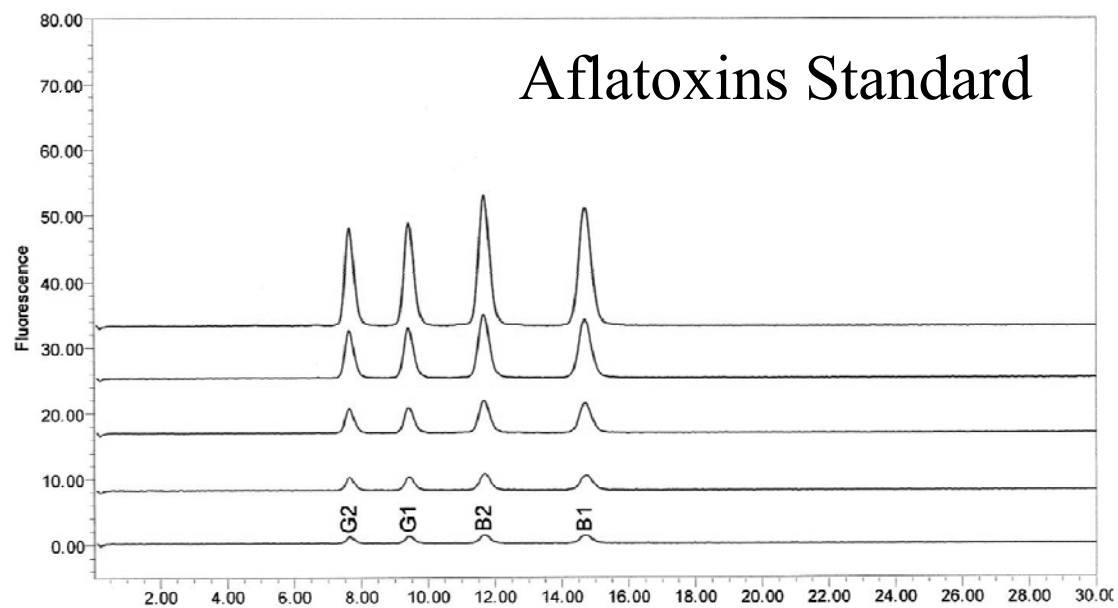
光化學反應器

Photochemical Reactor
AURA, KRC 25-25

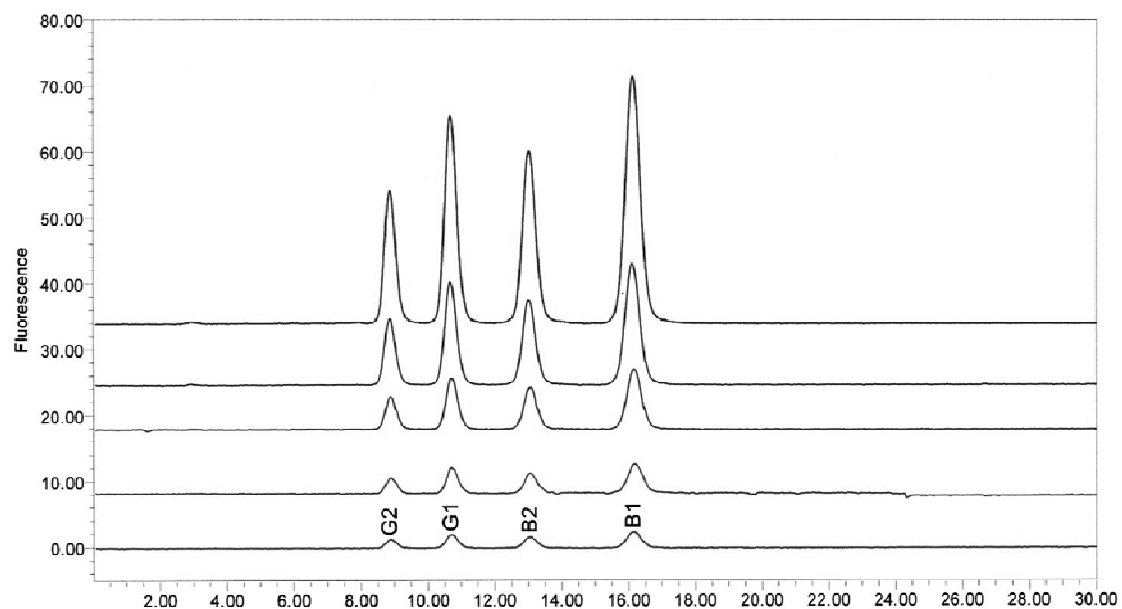


Ultra Violet Chemical Reactor Box (UVCR Box)
UVCR-02525



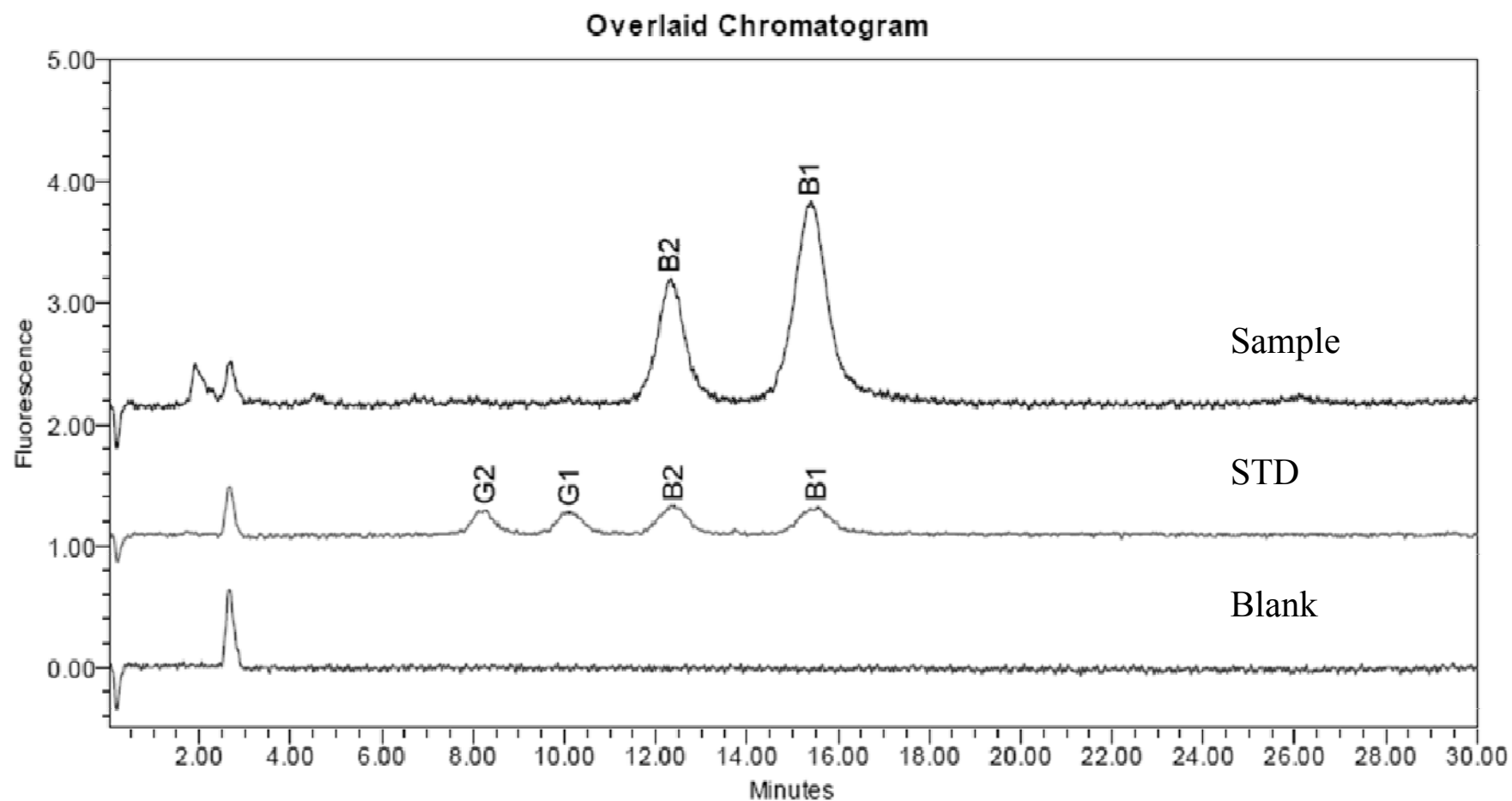


碘衍生化反應

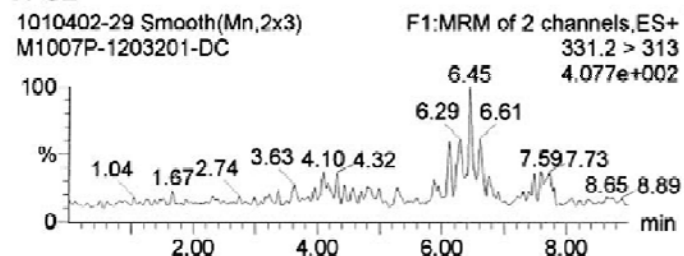


光化學衍生化反應

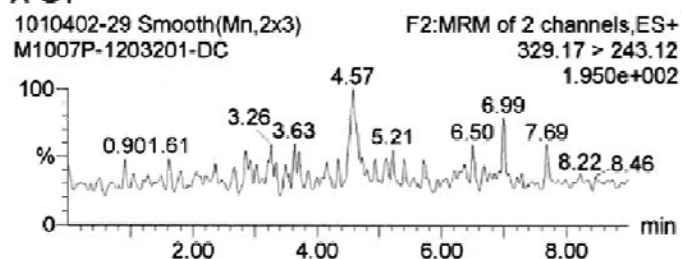
檢品溶液有檢出Aflatoxins



A-G2

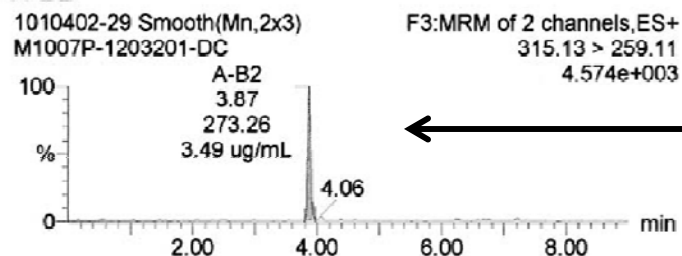


A-G1



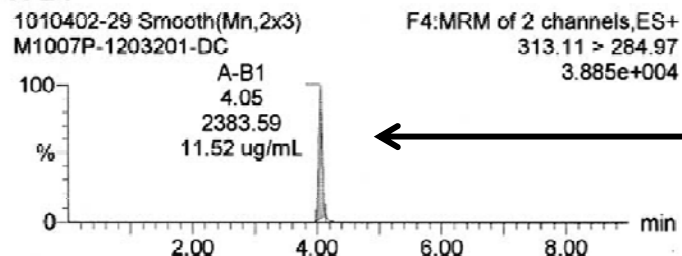
有檢出Aflatoxins時
以 LC/MS/MS
再分析確認

A-B2



← AFB₂

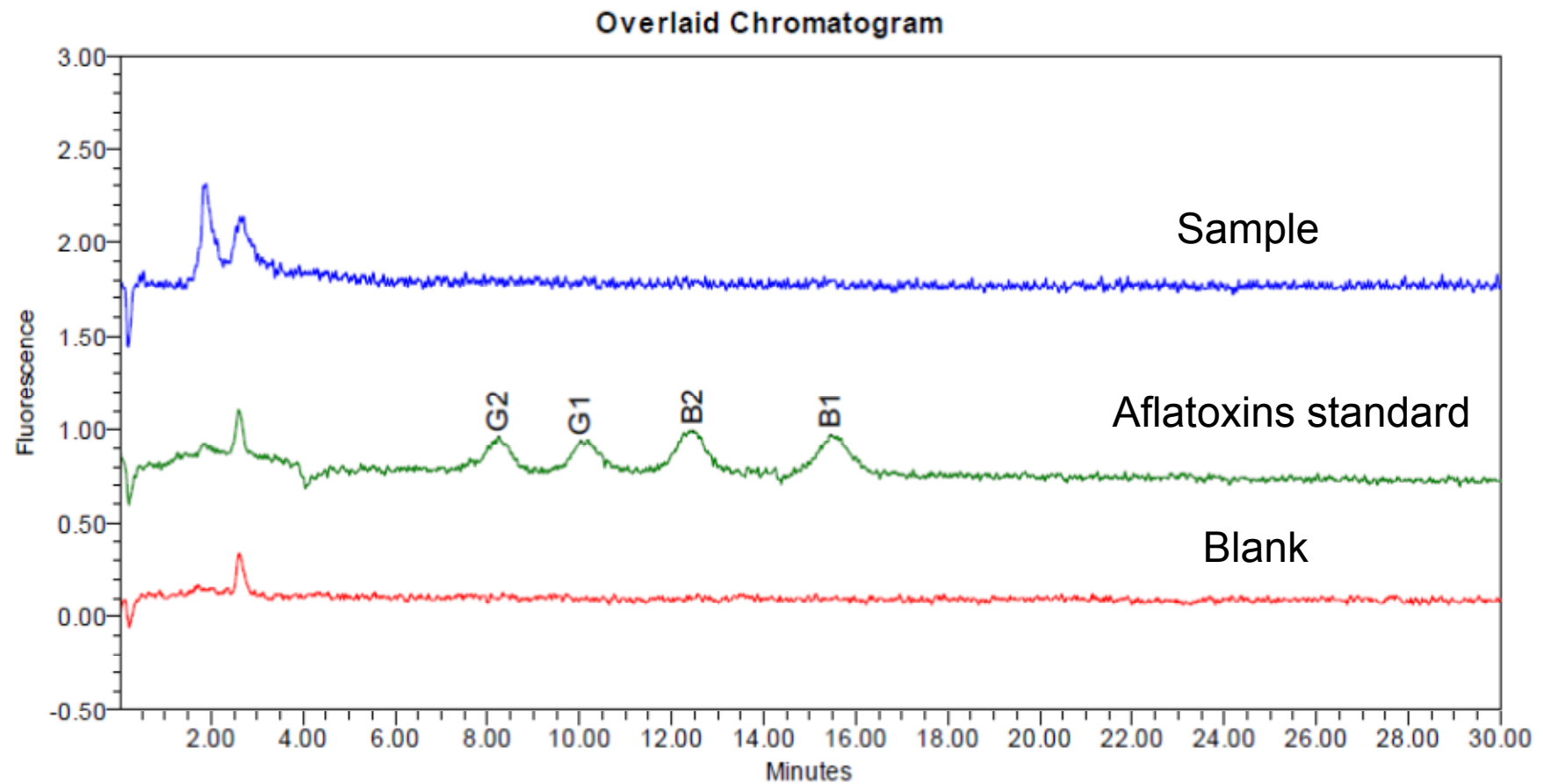
A-B1



← AFB₁



檢品溶液無檢出Aflatoxins



檢測極限值 B1 0.14ppb、B2 0.04ppb、G1 0.14ppb、G2 0.04ppb

檢測結果之數據單位

重量單位：奈克(ng)、微克(μg)、毫克(mg)、公克(g)、公斤(kg)

10^{-9}

10^{-6}

10^{-3}

1

10^3

體積單位：微升(μL)、毫升(mL)、公升(L)

ppm：百萬分之一 ($1/10^6$)

$\mu\text{g/g} = \mu\text{g/mL} = \text{mg/kg} = \text{mg/L}$

ppb：十億分之一 ($1/10^9$)

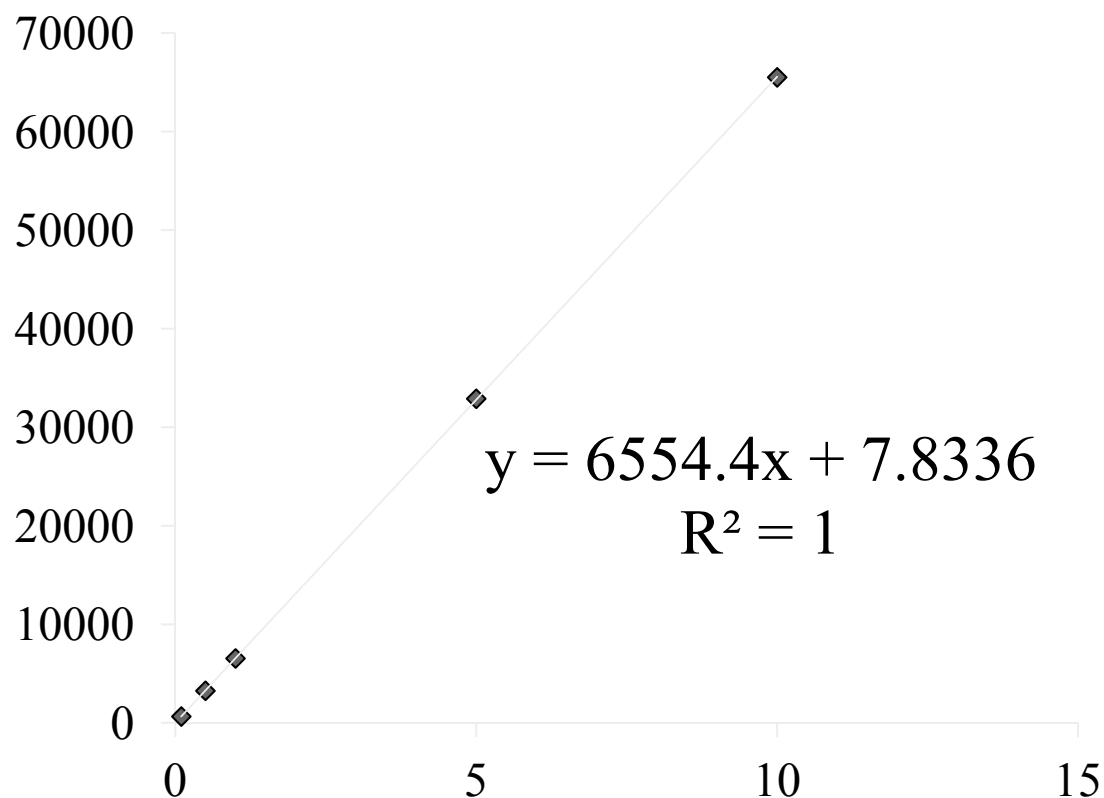
$\text{ng/g} = \text{ng/mL} = \mu\text{g/kg} = \mu\text{g/L}$

檢驗結果與計算-1

標準品溶液與檢量線

配製aflatoxin B1之檢量線，檢量線濃度由高至低分別為
10、5、1.0、0.5、0.1 ng/mL

STD (ng/mL)	積分面積
10	65500
5	32890
1.0	6542
0.5	3260
0.1	650



檢驗結果與計算-2

檢品溶液之配製

取檢品50g加80%甲醇100mL，均質後過濾，取濾液10mL加純水40mL，混合均勻後取10mL過免疫親和管，淨化後最後定量至2.0 mL。

由檢量線公式 $y = 6554.4x + 7.8336$ 求得濃度

$$\text{Sample AFB}_1(\text{ng/g}) = \frac{\text{Sol'n Conc. (ng/mL)} \times V(\text{mL})}{W(\text{g})}$$

$$V = 100\text{mL} \times \frac{50\text{mL}}{10\text{mL}} \times \frac{2\text{mL}}{10\text{mL}} = 100\text{mL}$$

分析方法確效

- 當依據的方法不適用於分析某中藥，必須將方法略作改變才能分析時，應進行該方法的確效；驗證方法可適用於黃麴毒素的分析，且不會受檢品中其他成分的影響。
 - 驗證分析方法之專一性
 - 確定方法檢測極限及定量極限
 - 線性及範圍 (線性濃度之最低濃度宜接近或相當於檢出限量之濃度)
 - 準確性 (以加樣回收率表示)
 - 精密性 (以方法重覆性之相對標準偏差表示)

注意事項

- 確認待測樣品是否適用於免疫親和管所要求的酸鹼度範圍。
- 確認免疫親和管之有效性；
 - 以黃麴毒素標準液測試免疫親和管的回收率；
 - 「香港中藥材標準」規定： $B_1 \geq 90\%$ 、 $B_2 \geq 80\%$ 、 $G_1 \geq 90\%$ 、 $G_2 \geq 60\%$ 。
 - 歐洲藥典7.0規定： $B_1 \geq 80\%$ (以AFB₁ 5ng進行測試)
- 黃麴毒素儲備標準溶液宜避光儲存在 -18 °C 以下，臨用前再取出，於室溫下放30分鐘以上再使用。
- 為了避免黃麴毒素污染，所有使用的容器可用10%漂白水浸泡12小時以上，再用純水沖洗。



Comparison of performance of VICAM affinity columns

Brand name	Analyte	Gel bead [mL]	Column capacity [ng]	Spike level for recovery ng	Spike conditions for recovery	Recovery %
AflaTest®	B1, B2, G1, G2, M1, M2	0.250	300	100 total	Spiked sample extract	B1, G1 ≥ 90%; B2 ≥ 85%; G2 ≥ 80%
AflaTest® WB	B1, B2, G1, G2, M1, M2	0.300	400	200 total	Spiked sample extract	B1, G1 ≥ 90%; B2 ≥ 85%; G2 ≥ 80%
AflaTest® WB SR	B1, B2, G1, G2, M1, M2	0.375	500	400 total	Spiked sample extract	B1, G1 ≥ 90%; B2 ≥ 85%; G2 ≥ 80%
Afla M1™ HPLC	M1, M2	1.000	150	2.5	spiked skim milk	M1 ≥ 85%
OchraTest™	OTA	0.200	100	20	spiked extract	B₁, G₁ ≥ 90% B₂ ≥ 85 % G₂ ≥ 80 %
OchraTest™ WB	OTA	0.250	300	20	spiked extract	
ZeralaTest™	ZON	0.350	1500	1500	spiked extract	
ZeralaTest™ WB	ZON	0.350	1500	1500	spiked extract	
DONtest™	DON	0.400	1250	25	spiked water	≥ 85% T-2
DONtest™ WB	DON	0.450	1250	25	spiked water	
T-2test™ HPLC	T2, HT2	0.300	1500 T-2	1500 T-2	spiked PBS	≥ 85% of each
T-2/H-T2™ HPLC	T2, HT2	0.600	2000 total	1400 total	spiked PBS	≥ 85%
FumoniTest™	FB1, FB2 & FB3	0.300	10000	7000	spiked PBS	≥ 85%
FumoniTest™ WB	FB1, FB2 & FB3	0.350	10000	7000	spiked PBS	≥ 85%
AflaOchra HPLC™	B1, B2, G1 & G2	0.500	100	100	spiked sample extract	> 85%
	OTA		100	100		> 85%
AOZ HPLC™	B1, B2, G1, G2	0.700	100	100	spiked sample extract	> 85%
	OTA		100	100		> 85%
	ZON		1000	50		> 85%
CitriTest® HPLC	Citrinin	0.350	20	20	spiked phosphoric acid solution	> 80%

行政院衛生署食品藥物管理局
實驗室品質管理規範－測試結果之品質管制



核定日期：99. 1. 19.
第一次修訂日期：99. 9. 29.
第二次修訂日期：101. 2. 6.
第三次修訂日期：101. 5. 15.

三、檢出限量之評估

1. 取均質空白樣品，加入適量標準溶液，作成依指定檢驗方法所訂檢出限量之添加量。配製 3 個樣品，依指定檢驗方法中待測樣品之分析步驟操作，並加以分析，若 3 次分析之訊號雜訊比(S/N ratio)均大於 10，則表示實驗室有能力執行指定檢驗方法所訂之檢出限量。

公告方法

- 附註：1. 本檢驗方法之檢出限量，黃麴毒素 B₁ 為 0.2 ppb、黃麴毒素 B₂ 為 0.1 ppb、黃麴毒素 G₁ 為 0.2 ppb 及黃麴毒素 G₂ 為 0.1 ppb。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。
 3. 以本檢驗方法檢出時，應利用 LC/MS 等進行確認。
 4. 黃麴毒素之檢驗可依行政院衛生署公告指定中華民國國家標準（CNS）總號 4090 類號 N6097 食品中黃麴毒素檢驗法或本檢驗方法，惟檢驗結果有爭議時，應以本檢驗方法為準。

三、檢出限量之評估：

2. 指定檢驗方法未訂定檢出限量時，取均質空白樣品，加入適量標準溶液，原則上以配製約1/10管制值，或3倍儀器偵測極限(或更高濃度)的添加量。配製3個樣品，依指定檢驗方法中待測樣品之分析步驟操作，並加以分析，以3次分析之訊號雜訊比均大於10之添加量作為檢出限量。

假設 AFB_1 限量標準為2 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

1/10管制值=0.2 ng/g

空白樣品50g

添加量為 $0.2 \text{ ng/g} * 50 = 10 \text{ ng}$

取50g空白樣品，添加10 ng AFB_1 ，

依既定的分析步驟操作；重複三次試驗。

試驗SOP內容

1. 目的
2. 範圍
3. 儀器設備及材料
4. 檢品之前處理
5. 試驗前之準備
6. 試驗步驟 (詳細步驟)
7. 試驗結果之計算公式及表示方法
8. 注意事項
9. 品質管制
10. 參考文件
11. 試驗紀錄表單 (工作日誌)

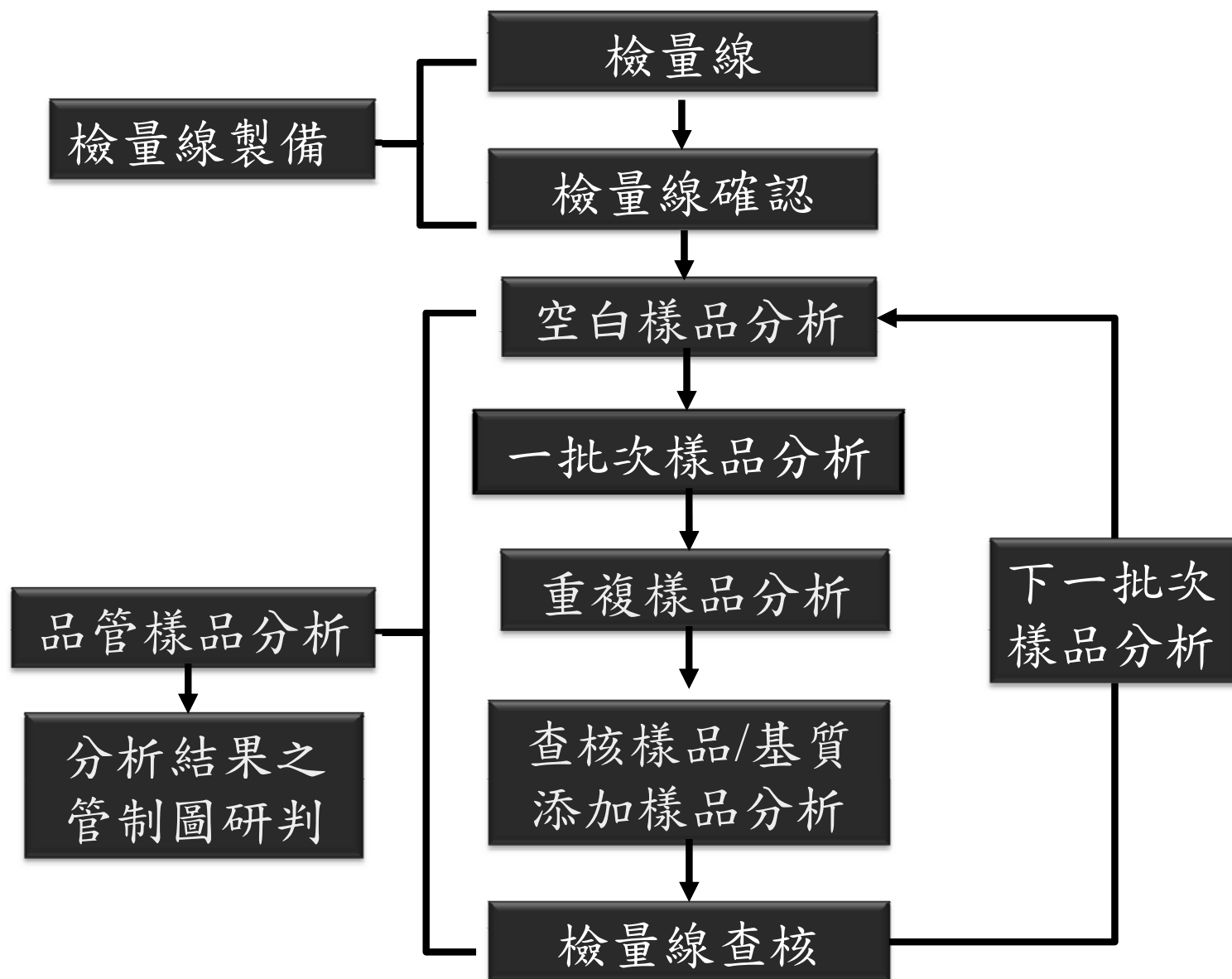
測試結果之品質管制

行政院衛生署食品藥物管理局
實驗室品質管理規範－測試結果之品質管制

核定日期：99. 1. 19.
第一次修訂日期：99. 9. 29.
第二次修訂日期：101. 2. 6.
第三次修訂日期：101. 5. 15.

一、品管樣品分析及品管圖之製作

1. 每批次(少於20個樣品)或每20個樣品至少做1次品管樣品分析。
2. 每次品管樣品分析包括空白、重複、查核樣品及基質添加之分析，其中查核樣品及基質添加得擇一分析。品管樣品分析應依所採用之檢驗方法步驟，與待測樣品同時實施檢驗分析。



■ 檢量線

- 製備檢量線：取標準品儲備溶液，依樣品分析方法配製至少5種不同濃度之標準溶液，由儀器所得之讀值相對於配製之標準溶液可獲得相關之線性圖及線性迴歸方程式 $y=ax+b$ ，若線性迴歸係數 r 大於0.995時，此檢量線可以接受，否則須重作。
- 檢量線確認：檢量線配製完成後隨即以不同來源之標準品(如不同廠牌或不同批號或不同配製者)配製檢量線的中間濃度進行確認，其分析結果之相對誤差值應在 $\pm 15\%$ 間，若是相對誤差超過 $\pm 15\%$ 則檢量線須重新檢討檢量線配製結果。
- 檢量線查核：配製檢量線的中間濃度標準溶液，查核分析過程中使用之檢量線之準確性。

■ 品管分析作業

空白分析、重複樣品分析、查核樣品分析或添加樣品分析，並填寫管制圖表。

- 空白分析：為確認樣品在檢驗過程中未受污染，應執行試劑空白分析，其值不得超過方法偵測極限的二倍。

- 添加樣品重複分析：重複樣品分析之目的為確認分析結果之精密度；其由兩次添加樣品分析結果(回收率)之相對差異百分比製作管制圖來表現。

- 添加樣品分析：添加樣品分析之目的為確認分析結果之準確度；配製不同於製備檢量線之標準品溶液，添加入樣品中，經與樣品同樣之處理步驟後進行分析，所求得之測試值，與真實值相比較，並計算其回收率及製作管制圖表。

■ 管制圖表之研判

- 以建立完成之管制圖，將品管樣品之分析數據填入圖表中，觀察其是否有下述情形，並做適當處理。
- 一批次樣品之分析值有以下狀況時，應重新分析；
 - 有一點超過管制上下限 (平均值 ± 3 SD)
 - 連續二點超過警告上下限 (平均值 ± 2 SD)
 - 連續六點(不包括轉折點)有漸昇或漸減之趨勢
 - 連續七點出現在平均線的一邊 (查核樣品或添加樣品分析)

基質添加分析&重複分析管制圖

基質添加的方法

Aflatoxin B₁的檢出限量 ≤ 5 ppb，

若檢品內不含Aflatoxin B₁，欲使添加後檢品內含5ppb標準品，其配製的方法如下：

$$5 \text{ ppb} = 5 \text{ ng/g}, 5 \text{ ng/g} \times 50 \text{ g} = 250 \text{ ng (Aflatoxin B}_1\text{)}$$

若Aflatoxin B₁標準品溶液濃度為100ng/mL，則取標準品溶液2.5mL添加至50g的檢品中，再依檢品溶液配製步驟操作。

配製過程溶液中Aflatoxin B₁濃度的變化

100mL萃取液

$$250 \text{ ng} / 100 \text{ mL} = 2.5 \text{ ng/mL}$$

取10mL，加40mL純水

$$(2.5 \text{ ng/mL} \times 10 \text{ mL}) / 50 \text{ mL} = 0.5 \text{ ng/mL}$$

取10mL過免疫親和管定量至2mL

$$(0.5 \text{ ng/mL} \times 10 \text{ mL}) / 2 \text{ mL} = 2.5 \text{ ng/mL}$$

回收率計算方法

若某檢品含AFB1 1.0 ng/g，添加等量的標準品於檢品中

預估添加量 $1.0 \text{ ng/g} \times 50\text{g} = 50 \text{ ng}$

添加體積=添加量(ng)÷標準品溶液濃度(ng/mL)

$$=50/100=0.5\text{mL}$$

添加後檢品實測濃度 (SSR)，理論上約為2.0 ng/g

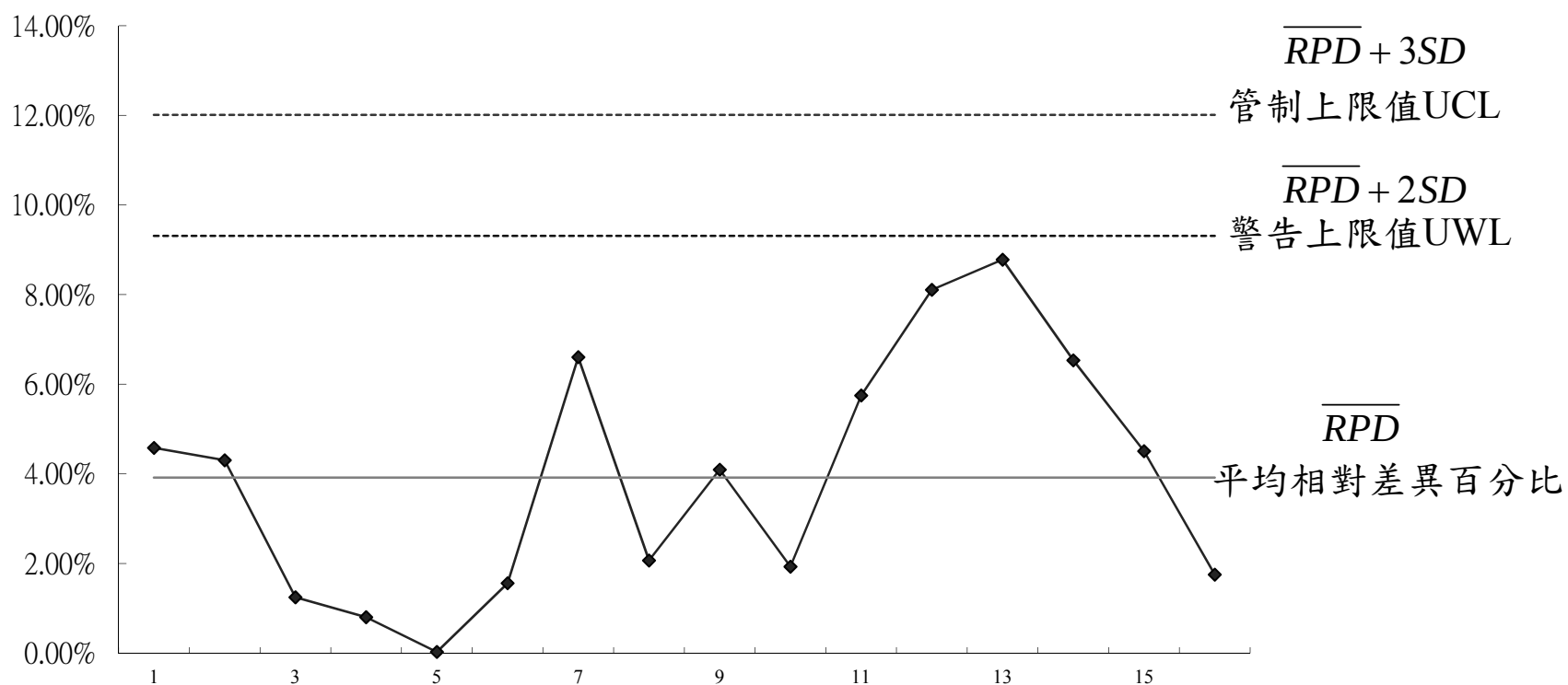
原檢品內濃度1.0 ng/g (SR)

添加濃度1.0 ng/g (SA)

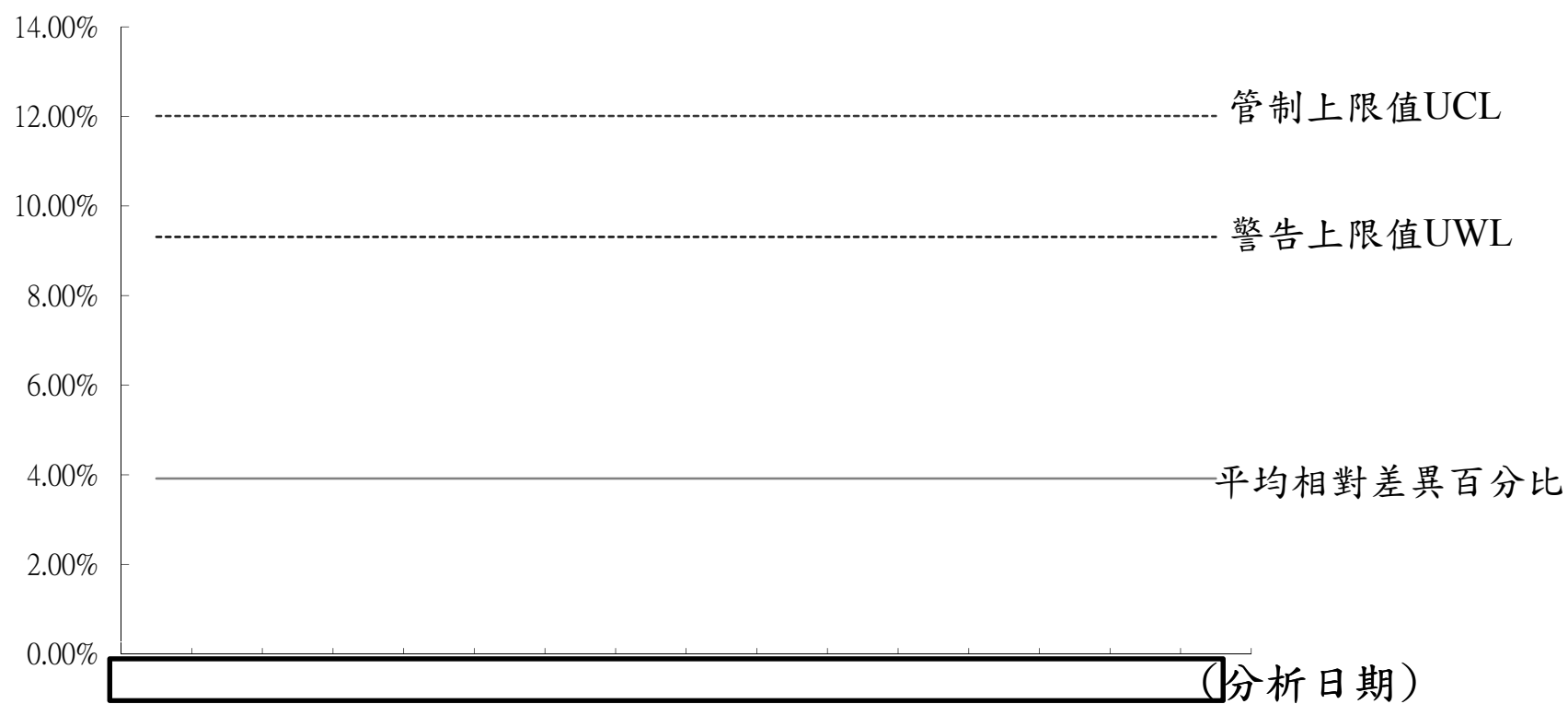
$$R\%=(SSR-SR)/SA \times 100\%$$

可接受之回收率：60~120 %

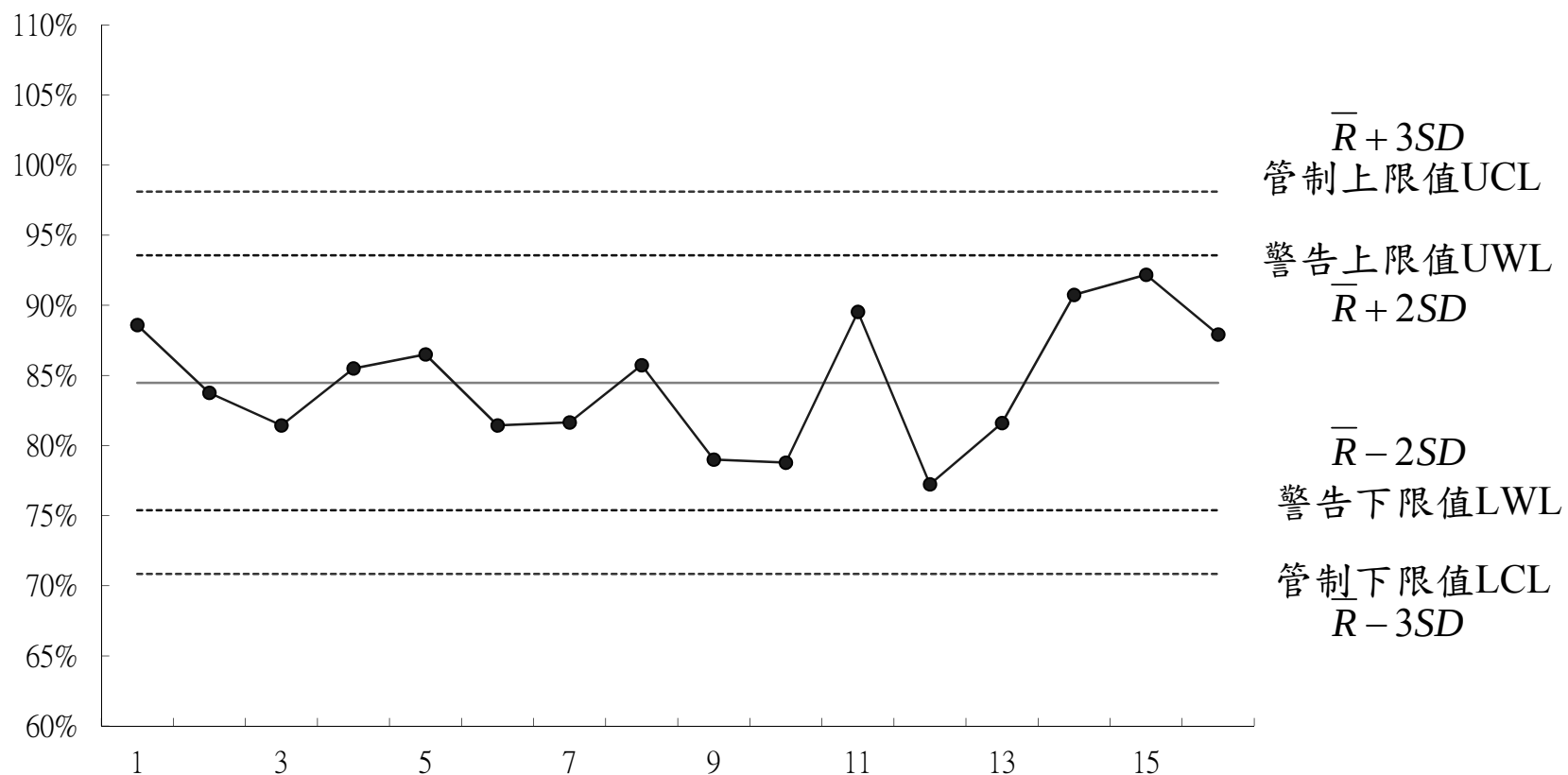
Aflatoxin B1 重複分析(X bar-管制圖)

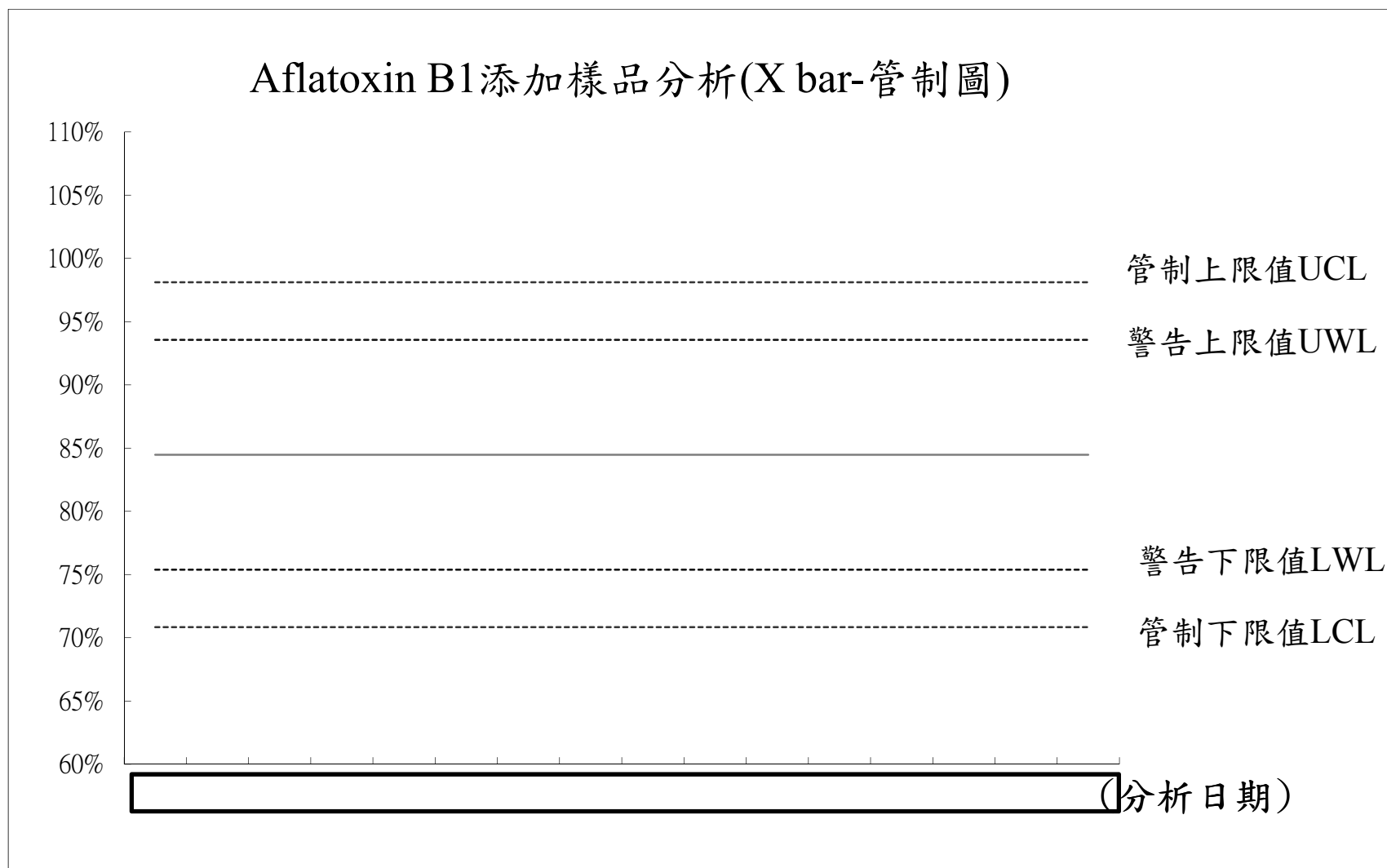


Aflatoxin B1 重複分析(X bar-管制圖)



Aflatoxin B1添加樣品分析(X bar-管制圖)





A black and white photograph of a building entrance. The building is a multi-story structure with a prominent sign on the side that reads "莊松榮製菓廠" (Zhuang Songrong Confectionery Factory). A large, bold text overlay in the center of the image reads "謝謝聆聽!" (Thank you for listening!). The entrance is flanked by trees and a hedge. A car is parked on the left side of the entrance.

謝謝聆聽!

E-mail: stchiang_1@hotmail.com