

編號：CCMP95-RD-019

中藥材內赭麴毒素、伏馬毒素、T2毒素 污染之研究

鄧正賢

亞洲大學

摘 要

研究目的：

赭麴毒素A(Ochratoxin A)是由麴黴菌和青黴菌所產生的，常分布污染了糧食和動物飼料，是一種很強的腎毒性致癌物質並具有免疫特性，在許多國家中赭麴毒素A是引起腎病的原因之一，許多證據證實巴爾幹半島的流行性腎病與赭麴毒素有關。去年度的計畫中(CCMP 94-RD-005)，進行了有關赭麴毒素A (Ochratoxin A)污染中藥材的研究，25個神麴樣品中檢出21含赭麴毒素A，濃度介於0.15 -45.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，故本年度的子計畫一進行大陸地區神麴的檢驗，又因香辛料於印度地區曾檢驗含高量的赭麴毒素A (>5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，甚至薑黃的污染量更超過100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，故本年度增加辛香類中藥材共計十種中藥材品項進行檢測，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莪朮、荳蔻。

伏馬毒素(Fumonisin)由Fusarium菌所產生的，常見於農產品生長或儲存過程，目前懷疑與人類食道癌有關。trichothecene毒素則是分子量不大且非揮發性成分，常由Fusarium, Myrothecium, Trichoderma, Stachybotrys菌所產生，其中T-2毒素會侵襲皮膚及呼吸道，亦為戰爭使用的黃雨化學武器，故本計畫增加此兩項黴菌毒素進行檢測。

故本計畫之目的在於完整建立中藥材內赭麴毒素A、伏馬毒素、T-2毒素的污染狀況，並建立中藥材內赭麴毒素A、伏馬毒素B1、T-2毒素污染的高效液相色譜檢測方法，以完整進行一系列黴菌毒素污染中藥材之研究。

研究方法：

本計畫以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀（附螢光檢出器）檢測指標成分赭麴毒素A、伏馬毒素B1、T-2毒素，其分析方法已建立。

赭麴毒素A其分析方法流程為取5 g樣品粉碎加入20 mL溶媒（甲醇：

1 % NaHCO₃)，超音波震盪1分鐘，濾紙過濾，入免疫親和力分離管(OchraTest™ affinity column)，以10 mL PBS及水洗之，再以1.5 mL 甲醇沖提出指標成分。高效液相層析儀分析赭麴毒素指標成分時，移動相為CH₃CN / H₂O / CH₃COOH(45 : 54 : 1, v/v)，流速為1.0 mL/min，檢測螢光波長為333 nm、477 nm。

伏馬毒素(Fumonisin)污染中藥材的研究乃以鄰苯二甲醛(o-phthalaldehyde)進行衍生化反應，即以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀(附螢光檢出器，激發波長335 nm及發射波長440 nm)檢測，並以OPA試劑進行柱前螢光衍生化反應。分析伏馬毒素指標成分時將甲醇及0.1 M 磷酸二氫鈉溶液以77 : 23 (v/v)比例混勻，以磷酸調整pH至3.35後，以濾膜過濾，濾液以超音波振盪除氣30 min後供作移動相溶液，激發波長335 nm及發射波長440 nm，並以OPA試劑進行柱後衍生化反應，流速為1.0 mL/min。

T-2毒素污染中藥材的研究以1-Anthroylnitrile進行柱前衍生化反應，並以4-dimethylaminopyridine (DMAP)為催化劑，液相層析儀(附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm)檢測。分析T-2毒素指標成分時，移動相為CH₃CN / H₂O (80 : 20 : , v/v)，流速為1.0 mL/min，檢測波長為381 nm、470 nm。

結果與討論：

利用上述分析技術進行對照標準品赭麴毒素A分析，赭麴毒素A在濃度1-50 ng/mL，得線性迴歸方程式($Y=mX+b$)及相關係數(r)為 $Y=0.5508-0.64834X$ ($r=0.9999$)，顯示良好線性關係。赭麴毒素A同日內及異日間相對標準偏差0.37-2.23 %及1.82-2.55 %，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為83.5-105.6%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限，赭麴毒素A的偵測極限為0.01 ng/mL。

利用上述分析技術進行對照標準品伏馬毒素B1分析，伏馬毒素B1在濃度1-50 μ g/mL，得線性迴歸方程式相關係數($r=0.9999$)，顯示良好線性關係。伏馬毒素B1衍生物同日內及異日間相對標準偏差1.89-3.23 %及3.82-5.55 %，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為89.9-101.2%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限30 ng/mL。

利用上述分析技術進行對照標準品T2毒素分析，T2毒素在濃度0.01-1.5 μ g/ml，得線性迴歸方程式($Y=mX+b$)及相關係數(r)為 $Y=0.00967397 X-0.00826326$ ($r=0.9982$)，顯示良好線性關係。T2毒素衍生物同日內及異日間相對標準偏差3.10-4.87 %及1.53-3.74 %，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為86.1-95.3%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限1.0 ng/mL。

目前已完成在臺灣地區北、中、南各地市售檢品及大陸大陸地區各省份共33個神麩樣品，赭麩毒素檢出包括神麩(33/35)、八角茴香Fructus Anisi Stellati(3/23)、胡椒Fructus Piperis Nigri(8/23)、薑黃Rhizoma Curcumae Longae(23/23)；伏馬毒素檢出包括薏苡仁Semen Coicis (8/20)、蓮子Semen Nelumbinis(5/20)；T2毒素檢出包括薏苡仁Semen Coicis (3/20)、淡豆豉Semen Sojæ Praeparatum(2/20)等檢品，含量分別依序0.29-36.78、0.46-1.73、0.38-13.22、1.38-9.85、0.12-1.53、0.25-11.82、47.50-89.53、25.30-65.50 µg/kg。故建議赭

麩毒素A受檢藥材為神麩、八角茴香、胡椒、薑黃等，伏馬毒素受檢藥材為薏苡仁、蓮子，T2毒素受檢藥材為薏苡仁、淡豆豉，並建議宜須進一步多點採樣並重複篩選確定，進而才規範其限量標準。

關鍵詞：赭麩毒素A、伏馬毒素B1、T2毒素、免疫親和、液相層析

Number: CCMP95-RD-019

Survey of Mycotoxins Contamination in Chinese Medicines - Ochratoxin A, Fumonisin B1 and T2 Toxin.

Deng Jeng-Shyan

Asia University

ABSTRACT

Aim:

Ochratoxin A (OTA) is produced by several species of the fungal genera *Aspergillus* and *Penicillium*. OTA has both antibiotic and toxic properties, the most important of which are its nephrotoxic, carcinogenic, and immunotoxic properties. It has been the cause of a nephropathy in many countries. Some evidence suggests that Balkan endemic nephropathy is an environmentally induced disease, related to exposure to fungal such as OTA. Within the last year, we proceeded the above mycotoxin project to established the methods of analysis of OTA in Chinese medicines. The method was applied to 25 samples of *Massa Medicata Fermentata*, OTA was detected in 16 samples, measurable at 0.29-19.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The purpose of the sub-subject I was to investigate the presence of OTA in *Massa Medicata Fermentata* collected from retail shops in China . And the occurrence of OTA in what are some of the most widely used spices in Indian cooking such as black pepper, coriander seeds, powdered ginger and turmeric powder was demonstrated, the 10 kinds of pungent Chinese crude drugs were analyzed.

Fumonisin (FB1) are toxins produced by *Fusarium* species that grow on several agricultural commodities in the field or during storage. Consumption of fumonisin can result in cancer of the esophagus. The trichothecene mycotoxins are low molecular weight (250-500 daltons) nonvolatile compounds produced by filamentous fungi (molds) of the genera *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys* and others. T-2 toxins may enter the body through the skin and digestive or respiratory epithelium. The air attacks in Laos have been described as “yellow rain” and consisted of a shower of sticky, yellow liquid that sounded like

rain as it fell from the sky.

The purpose of this study was to investigate the presence of OTA, Fumonisin and T-2 toxin in Chinese Crude Drugs in Taiwan. We first established the methods of analysis of OTA, Fumonisin and T-2 toxin, then the samples of Chinese crude drugs were collected from traditional markets or retail shops and analyzed for the mycotoxins. Using organic solvents extraction, immunoaffinity column (solid phase extraction) clean up and HPLC to analyze 33 kinds of Chinese crude drugs.

Method:

The method used commercial immunoaffinity columns for clean-up and HPLC with fluorescence detection for quantification of the toxin. For ochratoxin A, the samples were extracted with 20 mL solution (methanol : 1% sodium bicarbonate =70:30), filtered and applied to an OchraTest immunoaffinity column. The column was washed with 10 ml PBS buffer solution containing 0.01 % Tween-20 and followed by water. OTA was eluted with methanol and quantified by reversed-phase HPLC with fluorometric detection (excitation wavelength 333 nm, emission wavelength 477 nm) using acetonitrile–water–acetic acid (45:54:1) as mobile phase. For Fumonisin B1, the fumonisins do not absorb UV light or fluoresce; therefore, derivatizing reagents are used for detection when separation is by high performance liquid chromatography (HPLC). The standard derivatizing reagent used for HPLC is ortho-phthalaldehyde (OPA) plus 2-mercaptoethanol (ME) reaction partner. For T2 toxicity, The method uses immunoaffinity columns containing antibodies specific for T-2 for extract clean-up, pre-column derivatization with 1-AN and HPLC with fluorescence detection for toxin determination. Ground cereal samples were extracted with methanol–water (80:20, v/v), the extracts were purified by immunoaffinity columns and the toxin was quantified by reversed-phase HPLC with fluorometric detection (excitation wavelength 381 nm, emission wavelength 470 nm) after derivatization with 1-AN.

Results and Discussion:

The regression equations of OTA was $Y=0.5508-0.64834X$ ($r=0.9999$), Fumonisin B1 was $r=0.9999$ and T2 was $Y = 0.00967397X - 0.00826326$ ($r=0.9982$). The intraday and interday relative standard deviations of OTA, FB1 and T2 were at the levels of 0.37-4.87 % and 1.53-5.55 %, respectively. Detection limit was 0.01 (OTA), 30(FB1), 1.0(T2) ng/ml based on a signal-to-noise ratio of 3:1. The average OTA recoveries from spiked mycotoxins-free crude drugs varied from 83.5-105.6%, and RSD% ranged from 4 to 6%.

The methods were applied to about 23-35 different samples, OTA was

detected in 33 samples of Massa Medicata Fermentata, 3 samples of Fructus Anisi Stellati, 8 samples of Fructus Piperis Nigri, 23 samples of Rhizoma Curcumae Longae and FB1 was detected in 8 samples of Fructus Piperis Nigri, 5 samples of Semen Nelumbinis and T2 was detected in 3 samples of Semen Coicis, 2 samples of Semen Sojae Praeparatum, measurable at 0.29-36.78、0.46-1.73、0.38-13.22、1.38-9.85、0.12-1.53、0.25-11.82、47.50-89.53、25.30-65.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

In conclusion, this study had shown that the HPLC method could be applied successfully to analyze OTA, FB1 and T2 occurred in the traditional Chinese herbal medicines. Therefore, an easy and suitable method for the detection and assay of OTA, FB1 and T2 in traditional Chinese medicines was established.

Keywords: Ochratoxin A, Fumonisin B1, T2, immunoaffinity column, HPLC

壹、前言

黴菌毒素是由黴菌產生的毒素，包括黃麴毒素(Aflatoxin)、赭麴毒素(Ochratoxin)、伏馬毒素(Fumonisin)、Trichothecene毒素(T-2)、橘毒素(Citrinin)、Cyclopiazoic acid、Rubratoxin、Zearalenone、diacetoxy-scirp-enol等⁽¹⁾。

黃麴毒素(Aflatoxin)方面，衛生署自九十一年起，即由藥物食品檢驗局監視並檢測中藥材之污染情形，更於九十三年六月間，託付中醫藥委員會，蒐集各國所訂定的各種中藥品質標準，並且也將公告較可能被污染中藥材，包含：黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、橘皮等共計十五種中藥材，其限量標準皆為15 ppb，這將使我國成為最早對大量中藥材建立黃麴毒素限量標準的國家，故有關黃麴毒素污染中藥材的狀況業已完成⁽²⁾。

赭麴毒素(Ochratoxin)方面，本研究團隊在去年度的計畫中(CCMP 94-RD-005)，進行了有關赭麴毒素A (OTA)污染中藥材的研究，實驗結果顯示提出了(1)果實類：枸杞、大棗、五味子。(2)麴類：神麴、淡豆鼓。(3)其他易發霉中藥材：牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草、黃耆等可能被赭麴毒素A污染，故建議上述藥材為應受檢藥材且建議規範其限量標準為10 ppb，未來將可更有效阻隔被污染的中藥材進入國內，民眾將可更安心地使用中藥材⁽³⁾。

過去研究(CCMP 94-RD-005)⁽³⁾顯示神麴藥材檢出赭麴毒素A的比率為85%，回顧神麴的製麴過程中，是將藥材包埋於稻草或麻袋中，在適當的溫度及濕度下，待表面生出黃綠色菌絲，發酵完全，曬乾即供藥用⁽⁴⁾，參與發酵作用的微生物可能有黴菌、酵母菌、細菌等，而檢出高比例的OTA應該是製程中就受黴菌毒素之污染，造成健康上的顧慮，可見某些中藥材是在傳統炮製方法中就會受到赭麴毒素A污染而有腎毒性的危險，而非儲藏期間的問題。

然而臺灣的中藥主要從大陸進口，有沒有可能是因為臺灣中藥進口商進口大陸單一產地的問題，故對此神麴高比例的污染事件，採樣必須擴大到整個大陸地區，才能有較科學的證據，故這段時間中已先收集了大陸地區各省份共33個樣品，分布狀況如下圖1所示，希望能進一步證實神麴是否為OTA廣泛性典型的污染。

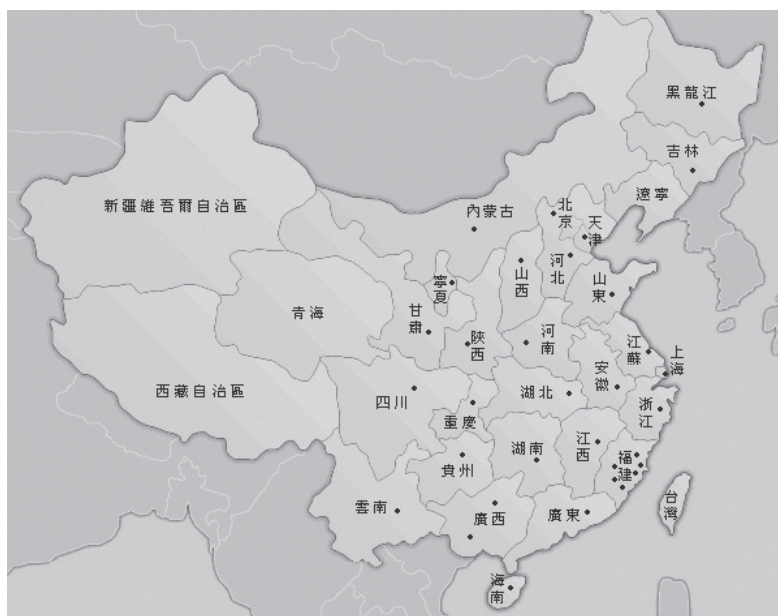


圖1 大陸地區各省份神麴藥材樣品收集分布

今年度本計畫預定針對神麴檢驗大陸地區及擴大檢驗品項，檢驗品項主要為辛香類中藥材，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莢朮、荳蔻。

香辛料材曾於1998年提出含有高量的赭麴毒素A (>5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，從香辛料中也曾分離出Aspergillus與Penicillium物種⁽⁵⁾，證實香辛料易受赭麴毒素A污染，Thirumala⁽⁶⁾也曾針對印度地區黑胡椒、胡荽、薑黃、鬱金進行赭麴毒素A調查，結果顯示市售126個樣品，有45個其OTA含量超過10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，其中以薑黃的量更超過100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，故本年度增加辛香類中藥材品項進行檢測，故今年度檢驗品項主要為辛香類中藥材，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莢朮、荳蔻。

由於本研究團隊對黴菌毒素檢驗技術更為純熟，今年度預計增加伏馬毒素(Fumonisin)及T2毒素的檢驗，以完整進行一系列黴菌毒素污染中藥材之研究。

伏馬毒素(Fumonisin)是由南非學者貝朱登霍(Bezuidenhout)等人，在1988年所發現的一種嶄新的真菌毒素(Mycotoxin)。這種毒素主要由鐮孢菌(*Fusarium moniliforme*)產生。若以馬作動物試驗，則證實會引發馬腦的一種神經失調疾病——白色軟化症(Equine leukoencephalomalacia, LEM)。Fumonisin的譯名，係取其諧音、馬的發病情形以及產毒菌名稱

而命名之⁽⁷⁻⁸⁾。伏馬毒素，自從被發現之後陸續證實也會引起小鼠肝癌，因而備受國際學者的重視。最近國際癌症機構(International Agen-

cy for Cancer), 已將它列入可能致癌物的黑名單內。這種毒素泛存於玉米及其他農作物, 目前許多先進國家為了保護國民健康及畜牧業不受其害, 已開始著手制定農產品及其食用原料等有關於伏馬毒素之容許量, 並管制已受此毒素污染之食品不得流入消費市場⁽⁹⁻¹⁰⁾。

目前國內對這方面的研究, 還很缺乏, 由於食道癌與伏馬毒素的關係密切, 而國內罹患這種癌症的人口亦不少, 因此從事這方面的基礎研究, 不但可以找出伏馬毒素引起食道癌之可能機制, 對於防患國人罹患食道癌的機會亦可能降低。

T-2毒素為一種由見於很多穀類, 食物及植物之數種梭黴(*Fusarium*) 屬產生之黴菌毒素, 蘇聯研發出來用以當生化武器黃雨, 具致癌性, 據資料顯示, T2 (*Trichothecene*) 毒素是一種黴菌, 主要由鐮刀孢菌及澱粉菌產生, 適合攝氏二十度以下環境生存, 最早由蘇聯研發為生化武器, 透過飛機向地面噴灑, 形成「黃雨」, 可經皮膚及吸收系統進入人體, 可出現低溫低血壓、免疫力減、脫髮、呼吸困難等多項病徵, 有研究更指大量吸收有致癌危機⁽¹¹⁻¹²⁾。

2005年8月, 臺灣有寶路飼主疑似慢性中毒, 而且中毒症狀與生化武器級的T-2黴菌中毒症狀類似的報導, 懷疑臺灣寶路狗糧含有戰時用作生化武器的T-2黴菌毒素, 並可感染狗主, 估計最少五十名狗主有疑似狀況, 出現頭暈、免疫力下降、皮膚潰爛等類似T-2慢性中毒病徵, 要求寶路公司及生部門全面檢驗這類狗糧, 事實上農委會也曾從其中驗出T-2毒素。

中國大骨節病是一種變形性、多發對稱性、地方性骨關節病, 主要侵害生長發育期的兒童, 導致關節軟骨壞死, 輕者關節粗大、疼痛、活動受限, 重者可致身材矮小、畸形喪失勞動能力和生活自理能力, 終生殘疾, 是嚴重危害病區人民身體健康的疾病, 目前亦懷疑是由T-2毒素所引起的⁽¹³⁾。

本計畫為期一年, 分子計畫一, 子計畫二, 子計畫三共同進行。

一、子計畫一：赭麴毒素A污染中藥材的研究

為延續去年計畫, 本子計畫針對神麴檢驗大陸地區及並擴大檢驗品項, 今年度檢驗品項主要為辛香類中藥材, 包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、肉桂、薑黃、鬱金、莢朮。

本研究採免疫親和力分離管(固相萃取法)前處理樣品, 評估其純化效果, 再以高效液相儀分析中藥材中赭麴毒素A, 目前已建立指標成分赭麴毒素A的簡單、快速、靈敏的分析方法, 由於其分析方法已建

立，且已收集大陸各地區神麩33個樣品，故本子計畫已於短時間內已完成，並於期中報告其成果。

二、子計畫二：伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素污染中藥材的研究

由於本研究團隊對黴菌毒素檢驗技術更為純熟，今年度預計增加伏馬毒素(Fumonisin)及T-2毒素的檢驗，以完整進行一系列黴菌毒素污染中藥材之研究。

(一) 第一部份為基礎分析研究，著重於建立中藥材內伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素的高效液相分析法：

伏馬毒素(Fumonisin)分析方法參照93年7月署授食字第0939316919號公告，食品中黴菌毒素檢驗方法—玉米及其製品中伏馬毒素 B1和B2之檢驗，以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀(附螢光檢出器，激發波長335 nm及發射波長440 nm) 檢測，並以OPA試劑進行柱後衍生化反應，並參考國內曾聰徹⁽¹⁰⁾、AOAC⁽¹⁴⁾等文獻資料修飾實驗方法。

T-2毒素分析方法參照Michelangelo⁽¹⁵⁾於2003年提出之方法，以免疫層析管純化樣品，並以1- anthrolylnitrile進行柱後衍生化反應以產生螢光，以高效液相層析儀(附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm) 檢測，並參考Jimenez⁽¹⁶⁾、Priska⁽¹⁷⁾等文獻資料修飾實驗方法。

(二) 第二部份為調查臺灣地區中藥材伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素的污染狀況：

本研究調查臺灣各地市售中藥材赭麴毒素含量之現況，實地訪察中藥材儲藏，檢驗對象則以曾公告檢出黃麴毒素，包含：黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮及檢出、赭麴毒素A藥材，包含：五味子、淡豆豉、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計二十三種中藥材。

在臺灣地區北、中、南各地收集上述藥材檢品各10~20個進行伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素含量檢驗。

三、子計畫三：中藥材儲存條件之調查及研究

依據上述優先管制之三十六種中藥材為研究評估對象，包含：神麩、肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莢朮、荳蔻黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮、五味子、神麩、淡豆豉、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計三十三種中藥材，以同一時間向同一中藥商訂購中藥材，以確保中藥之來源與性質一致性，先將中藥材分別進行赭麩毒素、伏馬毒素、T2毒素之檢測，確認無污染後，再將中藥材分成模仿中藥櫃儲存組及冷藏儲存組(4°C)進行儲存條件之研究，分別經三個月、六個月、九個月及十二個月後進行後續之赭麩毒素、伏馬毒素、T2毒素檢測之實驗評估

本計畫設計期望能達成以下目標：

- 一、確定中藥材神麩是否受赭麩毒素A廣泛性的污染，並建議規範其限量標準濃度，並進一步對相關濃縮製劑做調查。
- 二、調查臺灣地區辛香類中藥材內赭麩毒素A的污染狀況，並建議其限量標準濃度。
- 三、期望建立中藥（材）指標成分伏馬鐮孢毒素(Fumonisin)、T-2毒素的簡單、快速、靈敏的分析方法。
- 四、調查臺灣地區中藥材內伏馬鐮孢毒素(Fumonisin)、T-2毒素的污染狀況，並建議其限量標準濃度。
- 五、完整進行一系列黴菌毒素污染中藥材之研究，藉由分析方法的確立，對中藥來源的品質做一個良好的管制，促進國人使用中草藥的安全與發展

茲舉幾類重要毒素及其產毒菌，主要包括下列⁽¹⁰⁾：

一、Aflatoxin及Sterigmatocystin產毒真菌：

已被確認的有*A. flavus*, *A. flavus* var. *columnaris*, *A. parasiticus*, *A. niger*, *A. ruber*, *A. wentii*, *A. ostianus*, *P. citrinum*, *P. frequentans*, *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. puberulum*, *Rhizopus* sp., *Mucor mucedo*以及*Streptomyces* sp.等能夠產生致癌因子—黃麩毒素。而具致癌性的sterigmatocystin主要由*A. versicolor*所產出，此外，*A. nidulans*, *A. sydowii*, *A. rugulosus*, *A. flavus*及*Drechslera* sp.都具有產毒能力。

二、Ochratoxin A 產生菌：

此毒素最先由Scott等學者於南非發現，是由*A. ochraceus*產生的代謝物，已知會產生的真菌有*A. ochraceus*, *A. stians*, *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. petraku*, *A. sclerotiorum*, *A. sulphureus*; *P. palitans*, *P. purpurens*和*P. variabile*等。Ochratoxin A可自然存在於各種食物和穀類，例如：玉米、小麥、大麥、混合飼料、乾豆類（咖啡豆）和花生

等，能對腎臟、肝和脂肪組織造成傷害，是相當重要而值得正視的一種真菌毒素。

三、Fumonisin 產生菌：

伏馬鐮孢毒素(Fumonisin)是在1988年由南非學者Bezuidenhout等人所發現的一種嶄新的真菌毒素，此毒素主要由Fusarium moniliforme所產生。筆者於1989年參與曾聰徹教授所領導的研究團隊，加入研究臺灣地區地區之鐮孢菌之情形，發現29種從不同地區分離的Fusarium spp.中僅Fusarium moniliforme於玉米培養基中能產生fumonisin B1 (FB1)和fumonisin B2 (FB2)，而在38個F. moniliforme受測的strains中，約66%(25/38)具有產生FB1和FB2的能力，而當中14種僅產生FB1，另11種則同時可產生FB1和FB2。其後的研究中亦檢測到省產及進口的玉米樣本中含有此類毒素。

Fumonisin亦為一自然界存在的真菌毒素，具多種類似物，包括FB1、FB2、FB3、FB4、FA1及FA2。其中以FB1的毒性最強，產量亦最多。此毒素很特別的是為一種很強的極性化合物，易溶於水且對熱十分穩定，加熱至100°C尚難加以破壞。已知此毒素可引起動物多種疾病，包括：(1)馬腦白質軟化症(2)豬肺水腫(3)小鼠肝癌(4)人類食道癌等病症，相關的研究調查與制定管制標準是刻不容緩的。

四、Trichothecene 毒素產生菌：

Trichothecenes為一群屬於sesquiterpenoids的化合物，主要由Fusarium Cephalosporium, Myrothecium, Trichoderma和Stachybotrys等菌種所產生。而此類毒素中大部份是由Fusarium spp.所產生。Ueno等日本學者將這類毒素依照C-8位置上之化學構造，分為兩個群：Type A包括了T-2 toxin, Neosolaniol, Diacetoxyscripenol和HT-toxin；而Type B

則包括Fusarenon-X和Nivalenol兩種。這些毒素皆廣存於自然界(Natural occurrence)且活性相似，若接觸皮膚會引起嚴重的局部刺激、發炎與脫皮現象，呈非專一性的反應。T-2 toxin中毒症狀會引起動物拒食、嚴重嘔吐及白血球缺乏症(ATA)等症候。

臺灣高溫潮濕的氣候容易使黴菌生長，且民眾使用中藥的情形相當普遍，黴菌毒素是否會是否經常污染中藥而造成致病元兇值得研究注意。因此本年度的計畫重點著重於完整建立中藥材內赭麴毒素A的污染狀況，並建立中藥材內伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素污染的高效液相色譜檢測方法，以完整進行一系列黴菌毒素污染中藥材之研究。

國內外相關研究之文獻探討

日常農產食品，如穀類、蔬菜類、水果及其製品，由於受到自然環境、衛生條件、儲藏及運輸過程之影響，往往為微生物所污染。各種的黴菌及真菌是最普遍產生毒素而污染食物的來源。此類的毒素主要含有 4 種 Aflatoxin、Ochratoxin A、fumonisins、DON(Deoxynivalenol, T2)。由於 mycotoxins 是許多主要農產品的主要污染來源且影響食品安全，其具有極強的毒性及致癌性，食用過量會導致肝癌、腎藏病變，危害人體健康，因此分析這些毒素是否存在是非常重要的。這些毒素的含量限制依據各國規定有所不同⁽¹⁾：

	<u>US</u>	<u>World</u>
Total Aflatoxins	20 ppb	0- 20 ppb
Ochratoxin	4 ppb	5- 200 ppb
Zearalenone	-	60- 1000 ppb
Vomitoxin (DON)	1000 ppb	500- 750 ppb
Total Fumonisin	2-4 ppm	2- 1000 ppb

赭麴毒素和黃麴毒素類似，是一種天然的黴菌毒素，為 *Aspergillus* 屬或 *Penicillium* 屬黴菌所產生的二級代謝產物，赭麴毒素 A 具有腎臟毒性，可能導致畸胎性、免疫毒性及致癌性，更潛在有基因毒性，可能引起腎癌和肝癌⁽¹⁾。過去數年，使用抗體連結之免疫親和管做為樣品淨化步驟有效地改善 OTA 之分析。先以氫甲烷水溶液自樣品中萃取 OTA，再將過濾後的樣品以 PBS (Phosphate-buffered saline) 溶液稀釋通過免疫親和管進行淨化；對於烘焙咖啡樣品則於免疫親和管淨化前以 phenylsilane 固相萃取管淨化來避免咖啡因對親和管之不利影響，最終以 LC 螢光測定定量⁽²¹⁻²³⁾。葡萄酒（特別是紅葡萄酒）中存在的 OTA 首先由 Zimme and Dick (1995)⁽²⁴⁾ 發表。

伏馬毒素 Fumonisin 亦為一自然界存在的真菌毒素，具多種類似物，包括 FB1、FB2、FB3、FB4、FA1 及 FA2。其中以 FB1 的毒性最強，產量亦最多。此毒素很特別的是為一種很強的極性化合物，對熱穩定，由於食道癌與伏馬毒素的關係密切，而國內罹患這種癌症的人口亦不少，故其分析方法值得研究⁽⁷⁻⁸⁾。

中央植物研究所曾聰徹教授過去數十年來在臺灣對真菌毒素伏馬毒素研究上的具有重要貢獻，並發明了樣品純化裝置及方法（IBAS 純化管柱），具專利證號，主要以豆類及玉米汙染真菌毒素為其研究項目，值得尊敬⁽⁹⁻¹⁰⁾。

藥物食品檢驗局亦於93年7月署授食字第0939316919號公告，食品中黴菌毒素檢驗方法—玉米及其製品中伏馬毒素 B1和B2之檢驗，主要是以OPA試劑進行柱後衍生化反應。

有關伏馬毒素污染中藥材之研究則完全付之闕如，應盡速發展分析方法，討論建議受檢藥材且建議規範其限量標準，才可有效阻隔被污染的中藥材進入國內，保障民眾健康。

有關T-2毒素的國內相關分析方法研究分析研究未見有所報導，T-2毒素為一種由見於很多穀類，食物及植物之數種梭黴(*Fusarium*)屬產生之黴菌毒素，蘇聯研發出來用以當生化武器黃雨，具致癌性，據資料顯示，T2 (*Trichothecene*)毒素是一種黴菌，主要由鐮刀孢菌及澱粉菌產生，適合攝氏二十度以下環境生存，最早由蘇聯研發為生化武器，透過飛機向地面噴灑，形成「黃雨」，可經皮膚及吸收系統進入人體，可出現低溫低血壓、免疫力減、脫髮、呼吸困難等多項病徵，有研究更指大量吸收有致癌危機⁽¹¹⁻¹²⁾。

國外T-2毒素分析方法如下表所述，以氣相層析接質譜儀偵測為主⁽²⁵⁻²⁷⁾，目前則趨向於高效液相層析接螢光偵測⁽²⁸⁻²⁹⁾，主要是因為柱後衍生化技術純熟，本計畫分析方法參照Michelangelo⁽¹⁵⁾於2003年提出之方法，以免疫層析管純化樣品，並以1- anthrolylnitrile進行柱後衍生化反應以產生螢光，以高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm）檢測，並參考Jimenez⁽¹⁶⁾、Priska⁽¹⁷⁾等文獻資料修飾實驗方法。

Method	Publications (%)	Detector (%)			LOD/LOQ (µg/kg)
		ECD	MS	FLD	
GC	90	40	60		2-500
HPLC	10		95	5	1-1000

貳、材料與方法

一、實驗材料、試藥與儀器

(一) 實驗材料 自民國95年1月至民國94年3月間，本研究共蒐集臺灣全省各地販售之中藥材，包括(1)檢驗大陸地區神麩及並擴大檢驗品項辛香類中藥材，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莪朮。(2) 伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素的污染狀況，包括曾公告檢出黃麩毒素，包含：黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮及檢出、赭麩毒素A藥材，包含：五味子、淡豆豉、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計二十三種中藥材。(3)在臺灣地區北、中、南各地收集上述藥材檢品各20個進行毒素含量檢驗。

(二) 試藥

1. 赭麩毒素A、伏馬毒素B1、T-2毒素標準品購自Sigma公司。
2. 移動相溶媒：甲醇、CH₃CN為LC級，購自Mallinckrodt公司(Kentucky, USA)；冰醋酸為LC級，購自Merck (Hohenbrunn, Germany)，超純度過濾水之電阻高於18MΩ。
3. PBS / 0.1% Tween-20 Wash Buffer：以8.0g NaCl、1.2g Na₂HPO₄、0.2g KH₂PO₄、0.2g KCl加入990ml純水，再將pH值調至pH 7.0成為PBS。取1ml Tween-20加999 ml PBS即配成PBS / 0.1% Tween-20 Wash Buffer。
4. 1% NaHCO₃：取10g NaHCO₃，以水溶解，定溶至1L。5% NaHCO₃：取50g NaHCO₃，以水溶解，定溶至1L。
5. 乙腈溶液：乙腈及水以1：1 (v/v) 比例混合均勻。
6. 0.1M 磷酸二氫鈉溶液：取磷酸二氫鈉20.28克加入1000c.c.的HPLC級水。將甲醇與0.1M磷酸二氫鈉溶液以77：23比例混合均勻；混合甲醇與磷酸二氫鈉後，測量pH值，並用滴管加磷酸（約30ml左右）混合均勻，使pH值達3.35。再以玻璃纖維濾紙過濾，濾液以超音波震盪除氣體30min後作為移動相。
7. T-2衍生化試劑配置：1-AN 精稱30mg，以甲苯定量至100ml，取50ml冰存於-80℃，DMAP取32.5mg以甲苯定量至100ml，取50ml冰存於-80℃。

(三) 儀器

1. 高效液相層析儀，溶劑輸送系統為Waters 600E Gradient Pump，

附自動注射器(Autosampler 717+)，連接Waters 470 Fluorescence Detector。

2. 管柱為Merck公司Lichrospher 100 RP-18e (5 μm , 4.0 I.D.×250 mm)。
3. 數據處理為Millennium 3.2版。
4. 注射濾膜為Millipore (PVDF) 13 mm Syringe Filter 0.45 μm 。
5. 固相萃取管柱vicam公司 Othra Test TM affinity column。
6. 電子天平(Mettler Toledo AT201)。
7. 電子天平(Ohaus GalaxyTM 160)。

二、實驗方法

(一) 現況調查：本計畫先實地訪察臺灣各地中藥大盤商，了解中藥材儲藏狀況

及易發霉種類，以及對發霉中藥的處理方式。

(二) 收集參考相關文獻考察：收集國內外有關曾報導驗出黴菌毒素的中藥材的報導，列為檢

驗的對象，並以國內外實驗檢驗方法，修飾並建立建立指標成分的簡單、快速、靈敏的分析方法。

(三) 收集實驗材料：本研究調查大陸地區神麩三十三個樣本及臺灣各地市售辛香類

中藥材赭麩毒素A含量之現況，及曾公告檢出黃麩毒素及赭麩毒素A藥材，進行伏馬毒素及T毒素的研究，在臺灣地區北、中、南各地收集上述藥材檢品各20個進行赭麩毒素含量檢驗。

1. 檢驗大陸地區神麩及並擴大檢驗品項辛香類中藥材，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莪朮。
2. 伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素的污染狀況，包括曾公告檢出黃麩毒素，包含：黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮及檢出、赭麩毒素A藥材，包含：五味子、淡豆豉、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計二十三種中藥材。

(四) 分析方法之擬定：

赭麩毒素A分析方法採免疫親和力分離管（固相萃取法）前處理樣品，評估其純化效果，再以高效液相儀分析中藥材中赭麩毒素A，目前已建立指標成分赭麩毒素A的簡單、快速、靈敏的分析方法，方法建立於行政院衛生署中醫藥委員會計畫CCMP94-RD-005⁽²⁾。

伏馬毒素(Fumonisin)分析方法參照93年7月署授食字第0939316919號公告，食品中黴菌毒素檢驗方法—玉米及其製品中伏馬毒素 B1和B2之檢驗，以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長335 nm及發射波長440 nm）檢測，並以OPA試劑進行柱後衍生化反應，並參考國內曾聰徹⁽¹⁰⁾、AOAC⁽¹⁴⁾ 等文獻資料修飾實驗方法。

T-2毒素分析方法參照Michelangelo(13)於2003年提出之方法，以免疫層析管純化樣品，並以1-anthrolylnitrile進行柱後衍生化反應以產生螢光，以高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm）檢測，並參考Jimenez⁽¹⁶⁾、Priska⁽¹⁷⁾等文獻資料修飾實驗方法。

(五) 實驗裝置：

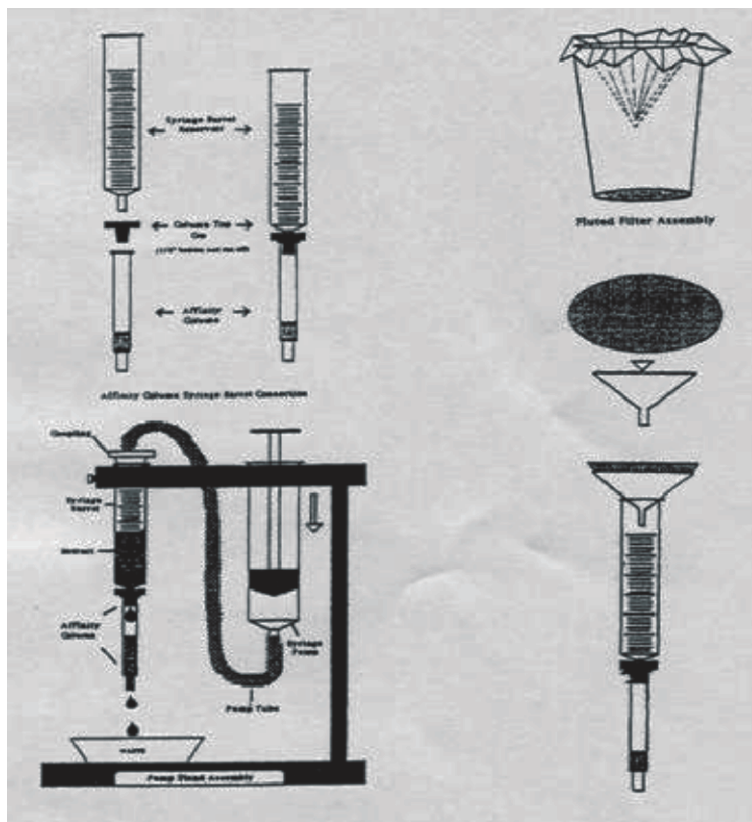


圖2 免疫親和力分離管 Othra Test TM affinity column⁽⁵⁾

(六) 實驗方法：

1. 赭麴毒素A

(1) 免疫親和分離管 Othra Test TM affinity column固相萃取(SPE)法

檢體：取5 g檢體加100 mL 1% NaHCO₃，震盪1min，過濾，加入適量PBS Buffer。

活化：10 mL PBS Buffer及10 mL 水。

裝填：固相萃取管柱使用免疫親和力分離管 Othra Test TM affinity column。

沖提：以 3 mL 甲醇沖提。收集沖提液並以氮氣吹乾，以 0.3 mL 甲醇定溶。

(2) 高效液相層析法-指標成分赭麴毒素之分析 高效液相層析儀，溶劑輸送系統為 Waters 600E Gradient

Pump，附自動注射器(Autosampler 717+)，連接 Waters 470 Fluorescence Detector，管柱為 Merck 公司 Lichrospher 100 RP-18e (5 μ m, 4.0 I.D.×250 mm；注射濾膜為 Millipore (PVDF) 13 mm Syringe Filter 0.45 μ m；分析赭麴毒素指標成分時，移動相為 CH₃CN / H₂O / CH₃COOH (45 : 54 : 1, v/v)，流速為 1.0 mL/min，檢測波長為 333 nm、477 nm。

2. 伏馬毒素

伏馬毒素 B1 以鄰苯二甲醛(o-phthaldialdehyde)進行衍生化反應，即以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長 335 nm 及發射波長 440 nm）檢測，並以 OPA 試劑進行柱前螢光衍生化反應。分析伏馬毒素指標成分時將甲醇及 0.1 M 磷酸二氫鈉溶液以 77 : 23 (v/v) 比例混勻，以磷酸調整 pH 至 3.35 後，以濾膜過濾，濾液以超音波振盪除氣 30 min 後供作移動相溶液，激發波長 335 nm 及發射波長 440 nm，並以 OPA 試劑進行柱後衍生化反應，流速為 1.0 ml/min。樣品萃取方法為樣品粉碎後取 5g，加 0.5g 的 NaCl 和 10 ml 甲醇：水=80 : 20（或是乙腈：甲醇：水=1 : 1 : 2），超音波震盪 10 min，用一般濾紙過濾。取濾液 4 ml 加 16 ml 的 PBS（不加 Tween 20 的 PBS），再次過濾，使用玻璃纖維濾紙過濾。取 10 ml 濾液進入免疫親和管，以每秒 1 滴的速度。用 10 ml PBS 洗一次。用 1.5 ml HPLC 甲醇收集於試管中。到入茄形瓶，原試管再用 2 ml 的甲醇洗，且合併之。（此時茄形瓶應有 3.5 ml）濃縮到乾。再用 200 μ l 的乙腈溶液溶解取 20 μ l 進入小 vial，加衍生化試劑 180 μ l，用力搖晃 1 min 後，靜置衍生化 1 min。立即進行高效液相層析分析。

衍生物調製，標準液或檢液 20 μ l 於褐色玻璃瓶中，加入 OPA 試劑 180 μ l，上下振搖 1min 後，靜置衍生化 1min 後，立即進行高效液相層析分析。

3. T-2 毒素

T-2 毒素以 1-Anthroylnitrile 進行柱前衍生化反應，並以

4-dimethylaminopyridine (DMAP)為催化劑，液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm）檢測。分析T-2毒素指標成分時，移動相為CH₃CN / H₂O (80 : 20 : v/v)，流速為1.0 mL/min，檢測波長為381 nm、470 nm。

流程為將10 g藥材粉碎，取1 g藥材置於試管，加入80% MeoH (MeoH : H₂O=80 : 20) 5 ml，超音波震盪shake 5分鐘，離心（3000轉、5分鐘），吸取2.5 ml上清液加入10ml H₂O，以玻璃纖維濾紙過濾（以1 ml H₂O濕潤），全部的濾液進免疫親和管（每秒1滴），以10 ml H₂O wash，以2 ml HPLC MeoH elute，用試管收集，衍生化，倒入茄型瓶（原試管以5 ml HPLC MeoH wash至茄型瓶），縮機濃縮至乾（不加熱、懸空），入50 μ l的 DMAP試劑，再加入50 μ l的1-AN試劑，浴鍋加熱至50°C（不抽氣、只旋轉、50°C水反應15分鐘），冰浴10分鐘，濃縮至乾，加入80%CH₃CN (CH₃CN : H₂O=80 : 20) 1ml，超音波震盪約3分鐘（溶解），以filter過濾，入HPLC。

(1) 線性關係與偵測極限 精確稱取對照標準品赭麴毒素，以甲醇溶解並定容至50

mL，使成作標準儲備溶液，再以甲醇稀釋調配成一系列濃度之標準溶液，分別取不同濃度之標準品溶液20 μ L，注入高效液相層析儀分析，以標準品之濃度為X軸，波峰面積為Y軸，製作標準曲線，並求出線性迴歸方程式($Y=mX+b$)及相關係數。

以不同濃度的標準品溶液，經HPLC分析，並以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限。

(2) 精密度試驗 取赭麴毒素對照標準品曲線範圍內選取四種濃度於同一

日及不同五日重覆注入高效液相層析儀，重覆分析各五次，所得數據計算相對標準偏差。

(3) 準確度試驗

添加回收試驗：分別添加不同量的赭麴毒素對照標準品於藥材中，依再依檢品溶液之配製方法處理，使每份檢體中添加之濃度分別為不同濃度的赭麴毒素，各取20 μ L注入高效液相層析儀，分析求其添加回收率。

參、結果

延續去年計畫，本子計畫針對神麩檢驗大陸地區及並擴大檢驗品項，今年度檢驗品項主要為辛香類中藥材，包括肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莪朮。

本計畫以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀（附螢光檢出器）檢測指標成分赭麩毒素A，已建立指標成分赭麩毒素A的簡單、快速、靈敏的分析方法，並已收集大陸各地區神麩35個樣品，本部分已分析完成。辛香類中藥材，包括：肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莪朮、荳蔻等共計十種中藥材品項進行檢測，共150樣品，本部分已分析完成。分析方法流程前已敘述。圖3為神麩經免疫管純化前後赭麩毒素A的高效液相層析圖。

利用上述分析技術進行對照標準品赭麩毒素A分析，赭麩毒素A在濃度1-50 ng/mL，得線性迴歸方程式($Y=mX+b$)及相關係數(r)為 $Y=0.5508-0.64834X$ ($r=0.9999$)，顯示良好線性關係。赭麩毒素A同日內及異日間相對標準偏差0.37-2.23 %及1.82-2.55 %，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為83.5-105.6%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限，赭麩毒素A的偵測極限為0.01 ng/mL，結果如表1所述。

本研究另調查臺灣各地市售中藥材伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素污染中藥材含量之現況，實地訪察中藥材儲藏，並以檢驗對象則以曾公告檢出黃麩毒素，包含：黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮及檢出、赭麩毒素A藥材，包含：五味子、淡豆豉、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計二十三種中藥材。在臺灣地區北、中、南各地收集上述藥材檢品各20個進行伏馬毒素(Fumonisin)、T-2毒素含量檢驗。

利用前述分析技術進行對照標準品伏馬毒素B1分析，伏馬毒素B1在濃度1-50 μ g/mL，得線性迴歸方程式相關係數($r=0.9999$)，顯示良好線性關係。伏馬毒素B1衍生物同日內及異日間相對標準偏差1.89-3.23 %及3.82-5.55%，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為89.9-101.2%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限30 ng/mL，結果如表1所述。圖4為薏苡仁內伏馬毒素經免疫親管管沖提及鄰苯二甲醛(o-phthalaldehyde)衍生化圖，圖5則為蓮子內伏馬毒素B1經免疫親管管沖提及鄰苯二

甲醛(o-phthaldialdehyde)衍生化圖。利用上述分析技術進行對照標準品T2毒素分析，T2毒素在濃度0.01-1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，得線性迴歸方程式($Y=mX+b$)及相關係數(r)為 $Y=0.00967397X-0.00826326$ ($r=0.9982$)，顯示良好線性關係。T2毒素衍生物同日內及異日間相對標準偏差3.10-4.87 %及1.53-3.74 %，顯示再現性可以接受。單味藥材添加回收率為86.1-95.3%，顯示準確性均可以接受。以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限1.0 ng/mL，結果如表1所述。圖6為T2毒素標準品(1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)經免疫親管管沖提及以1-Anthroylnitrile衍生化圖，圖7則為淡豆鼓內T2毒素經免疫親管管沖提及以1-Anthroylnitrile衍生化圖。

目前已完成在臺灣地區北、中、南各地市售檢品及大陸地區各省份共33個神麩樣品，赭麩毒素檢出包括神麩(33/35)、八角茴香(3/23)、胡椒(8/23)、薑黃(23/23)、結果如表2、表3所述。伏馬毒素檢出包括薏苡仁(8/20)、蓮子(5/20)，結果如表4所述；T2毒素檢出包括薏苡仁(3/20)、淡豆鼓(2/20)等檢品，結果如表4所述。含量分別依序**0.29-36.78、0.46-1.73、0.38-13.22、1.38-9.85、0.12-1.53、0.25-11.82、47.50-89.53、25.30-65.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$** 。本研究檢驗中藥材受黴菌毒素（赭麩毒素A、伏馬毒素B1、T2毒素）的污染狀況結果整理於表7。故建議赭麩毒素A受檢藥材為神麩、八角茴香、胡椒、薑黃等，伏馬毒素受檢藥材為薏苡仁、蓮子，T2毒素受檢藥材為薏苡仁、淡豆鼓，並建議宜須進一步多點採樣並重複篩選確定，進而規範其限量標準。

有關中藥材儲存條件之調查及研究，依據上述優先管制之三十六種中藥材為研究評估對象，包含：神麩、肉桂、八角茴香、小茴香、丁香、胡椒、花椒、薑黃、鬱金、莢朮、荳蔻黃耆、薏苡仁、延胡索、蓮子、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、神麩、橘皮、五味子、神麩、淡豆鼓、牛膝、當歸、地黃、白朮、澤瀉、甘草等共計三十三種中藥材，以同一時間向同一中藥商訂購中藥材，以確保中藥之來源與性質一致性，先將中藥材分別進行赭麩毒素、伏馬毒素、T2毒素之檢測，確認無污染後，再將中藥材分成模仿中藥櫃儲存組及冷藏儲存組(4°C)進行儲存條件之研究，分別經三個月、六個月、九個月及十二個月後進行後續之赭麩毒素、伏馬毒素、T2毒素檢測之實驗評估。

2006.01.25購入上述三十種中藥材各1000 g，馬上以夾鍊袋密封並置於4°C環境中，以酵素免疫分析測定赭麩毒素、伏馬毒素、T2毒素，確認無污染後（神麩原始即受赭麩毒素污染，6.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、（薑黃原始即

受赭麴毒素污染，6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、(五味子原始即受T2污染，1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。)

2006.02.12各500 g入中藥儲藏櫃及冷藏儲存組(4°C)，預定5/15、8/15、11/15、2/15測定污染狀況。有關中藥櫃儲存組及冷藏儲存組(4°C)內赭麴毒素(OTA)、伏馬毒素(FB1, mg/kg)、T2毒素(T2)調查研究結果如表5、表6所述。

其中丁香、花椒、莢朮、女貞子因訊號干擾及回收率太低而無法檢測，相關問題仍待探討。

肆、討論

過去有關赭麴毒素A的分析是採用溶劑萃取，接著以液相-液相萃取或固相萃取(solid-phase extraction)進化，結合檢測方法有酵素連結免疫吸附分析(ELISA)、薄層析(TLC)或易相層析(LC)，也因免疫親和管的使用大大改善特一性、大量共萃出物的移去，提高檢測感度，在濃度要求上具有高準確於正確性，且純化步驟快速，達到同時處理了萃取、濃縮及進化步驟，降低有害溶劑的使用。故本計畫以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀(附螢光檢出器)檢測指標成分赭麴毒素A，其偵測極限以三倍於指標成分和雜訊之波峰高度比的最小濃度視為儀器的偵測極限，赭麴毒素A的偵測極限為0.01 ng/mL，顯示此方法靈敏度極高。

去年度的計畫中(CCMP94-RD-005)，進行有關赭麴毒素A (Ochratoxin A)污染中藥材的研究，25個神麴樣品中檢出21含赭麴毒素A，濃度介於0.15-45.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，然而臺灣的中藥主要從大陸進口，有沒有可能是因為臺灣中藥進口商進口大陸單一產地的問題，故對此神麴高比例的污染事件，採樣必須擴大到整個大陸地區，才能有較科學的證據，故本年度的進行大陸地區神麴35個樣本，結果發現檢出33樣本受污染，污染量在0.29-36.78 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，其中10個樣本超過10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。若與去年度計畫

CCMP94-RD-005⁽³⁾結果彙整在一起，則神麴藥材共60個藥材，檢出54個樣本，污染量在0.15-45.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，其中18個樣本超過10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，且樣本蒐集區域包含臺灣及大陸地區、海南島、日本、韓國等，樣本數及區域範圍具代表性，回顧神麴的製麴過程中，是將藥材包埋於稻草或麻袋中，在適當的溫度及濕度下，待表面生出黃綠色菌絲，發酵完全，曬乾即供藥用，參與發酵作用的微生物可能有黴菌、酵母菌、細菌等，而檢出高比例的赭麴毒素A，大膽假設應該是製程中就受黴菌毒素之污染，造成健康上的顧慮，然仍須進一步至產地實地採樣發酵優勢菌種方可確定，另有一項假設為製造神麴藥材的原料如麵粉或麩皮本身即為受污染原料，然仍屬本人假設性臆測，但可知可見某些中藥材是在傳統炮製方法中就會受到赭麴毒素A污染而有腎毒性的危險，而非儲藏期間的問題。

辛香調味料大多產於熱帶或亞熱帶的灌木藤蔓植物，然後經過採收、日曬、乾燥等製程，陳明造⁽³⁰⁾等曾敘述其微生物污染相當嚴重，提出其污染種類包含致病性或腐敗性的微生物。Pafumi⁽³¹⁾和仇志強⁽³²⁾等曾對香辛調味料之微生物數目加以研究報導，指出除了黑胡椒污染最嚴重外，其他香辛料之總生菌數也高達對數值5.0以上，並且還有黴菌及

酵母菌、大腸桿菌群等。Boxter and Holzapfel⁽³³⁾調查的香辛料種類中有 53% 的樣品出現 *Bacillus cereus* 並同時發現黑胡椒的總生菌數最高。王進琦⁽³⁴⁾亦提及有些研究發現黑胡椒、紅椒、薑、芥末之總生菌數可由每公克含一百萬至十億個以上不等。香辛料材曾於1998年提出含有高量的赭麴毒素A (>5 µg/kg)，從香辛料中也曾分離出 *Aspergillus* 與 *Penicillium* 物種⁽⁵⁾，證實香辛料易受赭麴毒素A污染，Thirumala⁽⁶⁾也曾針對印度地區黑胡椒、胡荽、薑黃、鬱金進行赭麴毒素A調查，結果顯示市售126個樣品，有45個其OTA含量超過10 µg/kg，其中以薑黃的量更超過100µg/kg，故本年度增加辛香類中藥材品項進行檢測。結果顯示23樣本均含有薑黃OTA，含量在1.38-19.85µg/kg，其中6個超過10 µg/kg，故薑黃亦屬赭麴毒素A高污染群，必須加以注意。

伏馬毒素的檢測技術包括薄層色譜法、氣相色譜法、酶聯免疫法(ELISA)、高效液相色譜法(HPLC)等，研究和應用得最多的是利用免疫親和柱淨化後的螢光儀檢測法和HPLC法。目前伏馬毒素的免疫親和柱只有Vicom公司研製的FumoniTest分離柱。免疫親和柱結合螢光儀檢測法的原理為將樣品與提取液混合均勻過濾，濾液通過鍵合有伏馬毒素特殊抗體的FumoniTest分離柱，伏馬毒素會鍵合在分離柱的抗體上，再以溶劑去除免疫親和柱上的雜質，再以適當溶劑沖提。本研究的伏馬毒素(Fumonisin)分析方法則參照93年7月署授食字第0939316919號公告，食品中黴菌毒素檢驗方法—玉米及其製品中伏馬毒素 B1和B2之檢驗，以免疫層析管純化樣品及高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長335 nm及發射波長440 nm）檢測，並以OPA試劑進行柱後衍生化反應，OPA於鹼性pH及硫醇類助劑如：2-Mercapto ethanol於室溫即可迅速與第一級胺(Primary amine)反應成Isoindole類衍生物，具有良好之螢光、紫外光檢測感度。OPA與第一級胺之胺基酸反應迅速，而與第二級胺(Secondary Amine)之胺基酸如：Proline, Hydroxyproline則需先以Hypochlorite氧化裂解成第一級胺，始能與OPA反應成吸光性衍生物。本研究先以Vicom售出的OPA標準試劑（Developer B及Developer A）進行衍生化反應，然而結果顯示無法於3分鐘內迅速完成反應，甚至衍生化指標波峰於二十四小時內不斷升高，與其使用手冊文獻不合，修正衍生化試劑向Sigma購買鄰苯二甲醛(o-phthalaldehyde)、乙硫醇(2-mercaptoethanol)試劑自行配置，整個流程並參考國內曾聰徹⁽¹⁰⁾、AOAC⁽¹⁴⁾等文獻資料修飾實驗方法。

伏馬毒素本身無螢光性，必須以鄰苯二甲醛(o-phthalaldehyde)進行衍生化反應，進行柱前螢光衍生化反應。再以液相層析激發波長335

nm及發射波長440 nm分析，必須特別注意此衍生化結構不穩定，必須在三分鐘內入HPLC，否則將影響結果，故整個衍生化程序必須規律化，每個步驟也必須固定時間。

有關伏馬毒素污染中藥材之研究，發現薏苡仁易受伏馬毒素污染，約有一半比率受其微量污染，污染量在0.12-1.53mg/kg。另蓮子(5/20)也驗出此毒素，污染量在0.25-11.82 mg/kg。應進一步討論建議受檢藥材且建議規範其限量標準，才可有效阻隔被污染的中藥材進入國內，保障民眾健康。

伏馬菌素是在八十年代後期被發現的，國際癌症機構(International Agency for Cancer)，已將它列入可能致癌物的黑名單內，泛存於玉米及其他農作物，目前許多先進國家為保護國民健康及畜牧業不受其害，已開始著手制定農產品及其食用原料等有關於伏馬毒素之容許量，並管制已受此毒素污染之食品不得流入消費市場⁽⁹⁻¹⁰⁾。雖然在1995年只有一個國家採用法規對伏馬菌素進行控制，但是目前已經上升至6個國家，這些國家對玉米中伏馬菌素的限量幅度從1000至3000 ppb。2001年美國食品與藥物管理局(FDA)發佈了供人類食用的玉米和玉米產品伏馬毒素最高限量指導性公告，規定人類食用玉米中伏馬毒素最高限量為2 mg/kg，而FDA的畜牧醫學中心(CVM)也發佈動物飼料中伏馬毒素的最高限量指導性公告，規定其限量範圍為1-50mg/kg⁽³⁵⁾。儘管從比例上呈顯著上升，但限制伏馬菌素含量的國家數目依然太少，以致無法就普遍接受的限量標準得出有意義的結論，然而本研究中受其污染中藥材有些超過玉米限量值而必需加以注意，然而確實暴露劑量則必須進一步研究。

伏馬毒素事實上是串珠鐮刀菌在一定溫度和濕度條件下繁殖所產生的一類黴菌毒素，多見於糧穀和飼料中。目前發現玉米最容易感染串珠鐮刀菌，而產生的伏馬毒素B1對多種動物有較嚴重的毒副作用，包括馬大腦白質軟化症、豬肺水腫、小鼠肝癌、人類食道癌等。而人類食道癌早在1988年南非科學家就對食道癌發病率高和低的地區進行過調查，結果發現食道癌高發地區的主食玉米受伏馬毒素的污染情況比低發區嚴重，食道癌發病率與伏馬毒素污染呈正相關，進一步的動物試驗也得到了相同的結果。1994年中國學者和日本學者對食道癌高發區的河南省林縣進行了一次調查，發現該地區主食玉米中伏馬毒素水準高達30-50mg/kg，發黴玉米中伏馬毒素最高值達118.4mg/kg⁽³⁵⁾。目前臺灣食道癌患者有逐漸增加趨勢，究竟是致病原因是飲酒、檳榔、或伏馬毒素，需進一步確證和研究。

有關T-2毒素的國內相關分析方法、研究分析研究未見有所報導，

T-2毒素為一種由見於很多穀類，食物及植物之數種梭黴(*Fusarium*)屬產生之黴菌毒素，蘇聯研發出來用以當生化武器黃雨，具致癌性，據資料顯示，T2 (Trichothecene)毒素是一種黴菌，主要由鐮刀孢菌及澱粉菌產生，適合攝氏二十度以下環境生存，最早由蘇聯研發為生化武器，透過飛機向地面噴灑，形成「黃雨」，可經皮膚及吸收系統進入人體，可出現低溫低血壓、免疫力減、脫髮、呼吸困難等多項病徵，有研究更指大量吸收有致癌危機⁽¹¹⁻¹²⁾。

國外T-2毒素分析方法如下表所述，以氣相層析接質譜儀偵測為主⁽²⁵⁻²⁷⁾，目前則趨向於高效液相層析接螢光偵測⁽²⁶⁻²⁷⁾，主要是因為柱後衍生化技術純熟，本計畫分析方法參照Michelangelo⁽¹³⁾於2003年提出之方法，以免層析管純化樣品，並以1- anthrolylnitrile進行柱後衍生化反應以產生螢光，以高效液相層析儀（附螢光檢出器，激發波長381 nm及發射波長470 nm）檢測，並參考Jimenez⁽¹⁶⁾、Priska⁽¹⁷⁾等文獻資料修飾實驗方法。

有關中藥材受T-2毒素污染的狀況，發現薏苡仁(3/20)低比例受其污染，污染量在47.50-89.53 mg/kg。T2毒素制定法規的國家數目相對較少，在此就不對其進行深入討論。

基於安全因素及考量經濟效應，建議赭麴毒素A受檢藥材為神麴、八角茴香、胡椒、薑黃等，伏馬毒素受檢藥材為薏苡仁、蓮子，T2毒素受檢藥材為薏苡仁、淡豆豉，並建議宜須進一步多點採樣並重複篩選確定，進而才規範其限量標準。

伍、結論與建議

- 一、確定中藥材神麩易受受赭麩毒素 A 廣泛性的污染，且確定大陸地區神麩亦為高污染藥材，建議應對其製麩過程加以改良，避免黴菌毒素污染。
- 二、建議神麩為進出口貿易必檢項目，規範其限量標準濃度，以阻絕有毒中藥進入臺灣，並進一步對相關濃縮製劑做調查，結果可以為醫藥衛生政策參考。
- 三、薑黃亦為赭麩毒素 A 高污染藥材，宜進一步深入研究。四、伏馬毒素、T2 毒素在中藥材中污染率不高，應可參酌項目需要而訂。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP95-RD-019 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Website: <http://www.who.int>
2. 行政院衛生署中醫藥委員會, <http://www.ccmp.gov.tw>。
3. 行政院衛生署中醫藥委員會委託研究計畫, CCMP94-RD-005。
4. 張賢哲、蔡貴花: 中藥炮製學, 中國醫藥學院出版組, 台中1995; pp.61, 515-520。
5. Flannigan B, Hui S.C. The occurrence of aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in the mould floras of ground spice. *J. Appl. Bacteriol.* 1976, 41: 411-418.
6. Thirumala-Devi K, Mayo Ma, Gopal Reddy, K Tangni. DVR Occurrence of ochratoxin A in black pepper, coriander, ginger and turmeric in India. *Food Additives and Contaminants.* 2001,18(9): 830-835.
7. Colvin B. M., L. R. Harrison. *Myopathologia.* 1992, 117: 79-82.
8. Gelderblom W.C.A., *Carcinogenesis.* 1991, 12: 1247-1251.
9. 曾聰徹, 正視伏馬鐮孢毒素問題。科學月刊, 1994, 25(5): 354-356。
10. 曾聰徹、陳瑞青, 真菌學之最近發展。行政院國家科學委員會生物科學研究中心, 1985, pp.185-203。
11. Rosen R. T., Rosen J. D. Presence of four *Fusarium* mycotoxins and synthetic material in 'yellow rain'. Evidence for the use of chemical weapons in Laos, *Biomed. Mass Spectrom.* 1982, 9: 443-450.
12. Mirocha C. J., Pawlosky R. A., Chatterjee K., Watson S., Hayes, W. Analysis for *Fusarium* toxins in various samples implicated in biological warfare in Southeast Asia, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1983, 66: 1485-1499.
13. 全國大骨節病病情監測組。全國大骨節病病情監測十年總結 (1990-1999), 中國地方病學雜誌, 1999 (19) 6。
14. Sydenham EW, Shephard GS, Thiel PG, Stockenstrom S, Snijman PW, Van Schalkwyk DJ. Liquid chromatographic determination of fumonisins B1, B2, and B3 in corn: AOAC-IUPAC Collaborative Study. *AOAC Int.* 1996, 79(3):688-96.
15. Michelangelo Pascale, Miriam Haidukowski, Angelo Viscoti. Determination of T-2 toxin in cereal grains by liquid chromatography with fluorescence detection after immunoaffinity column clean-up and derivatization with 1-anthrolylnitrile. *Journal of Chromatography A.* 2003, 989: 257-264.
16. M. Jimenez, JJ Mateo, R. Mateo. Determination of type A trichothecenes by liquid chromatography with coumarin-3-carbonyl chloride derivatization and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A,* 2000, 870: 473-481.
17. Priska Koch. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicology Letter.* 2004, 153: 109-112.
18. van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L., Scott, D.B. & Theron, J.J. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature* 1965, 205: 1112-1113.

19. Abarca M.L., Bragulat M.R., Castella G., Cabanes. F.J. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl Environ. Microbiol.* 1994, 60: 2650-2652.
20. Breitholtz-Emanuelsson A., Olsen M., Oskarsson A., Palminger I., Hult, K. Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J. AOAC Int.* 1993, 76: 842-846.
21. Emwisle A.C., Williams A.C., Mann P.J., Russel J., Slack P.T., Gilbert. J. Combined phenyl silane and immunoaffinity column clean-up with liquid chromatography for the determination of ochratoxin A in roasted coffee: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 2000, 84: 444-450.
22. Visconti A., Pascale M., Centonze G. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1999, 864: 89-101.
23. Visconti A., Pascale M., Centonze G. Determination of ochratoxin A in domestic and imported beers in Italy by immunoaffinity clean-up and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 2000, 888: 321-326.
24. Zimmerli B., Dick, R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: Methodology and Swiss data. *J. Chromatogr. B* 1995, 666: 85-99.
25. Langseth W., Rundberget T.. *J. Chromatogr. A* 1998, 8: 15, 103.
26. Krska R., Baumgartner S., Josephs R. State of the art of trichothecene analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.* 2001, 371: 285.
27. Priska Koch. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicology Letter.* 2004, 153: 109-112.
28. Pascale M., Haidukowski M., Visconti A.. *J. Chromatogr. A.* 2003, 989: 257.
29. Dall' Asta C., Biancardi A., Galaverna G., Doussena A., Marchelli R. *J. Chromatogr.*, submitted for publication. 2003.
30. 陳明造：肉品加工理論與應用修訂版，藝軒圖書出版社，台北1987；pp.320-324。
31. Pafumi J. Assessment of the microbiological quality of spices and herbs. *J. Food Prot.* 1986, 49(12): 958-963.
32. 仇志強，香辛料之基本作用。食品工業，1980，12(4)：23-31。
33. Baxter R., Holzapfel WH. A microbial investigation of selected spices, herbs, and additives in South Africa. *J. Food Sci.* 1982, 47: 570-574.
34. 王進琦：食品微生物學修訂版，藝軒圖書出版社，台北1994；pp.189-192，337-355，428-429，460-463。
35. <http://www.fao.org/docrep/008/y5499c/y5499c00.htm>，2003年全世界食品和飼料真菌毒素法規，糧農組織食品和營養論文，聯合國糧食及農業組織羅馬2004年。

柒、圖、表

表1、赭麴毒素A、伏馬毒素B1、T2毒素同日間及異日間標準偏差值
(Intraday and interday analytical precisions)

Chemical compound	Concentration (ng/mL)	Intraday (R.S.D.,%)	Interday (R.S.D.,%)
Ochratoxin A	2.5	2.23	1.82
	10.0	0.56	2.55
	40.0	0.37	1.91
Fomonisin B1	5(μ g/mL)	1.89-3.12	4.02-5.55
	10(μ g/mL)	0.65-3.23	3.82-4.01
	30(μ g/mL)	0.15-0.84	4.33-5.18
T2 toxicity	50	4.26-4.87	1.53-3.74
	100	3.10-4.21	1.45-1.84
	800	3.22-3.59	2.75-3.41

N=5

表2、大陸地區神麴藥材受赭麴毒素A污染狀況

Crude drugs	Collected numbers	Contained numbers	Ochratoxin A (μ g/kg)	>10 μ g/kg Ochratoxin A
神麴	35	33	0.29 – 36.78	10

表3、臺灣地區辛香類藥材內赭麴毒素A的污染狀況

Crude drugs	Collected numbers	Contained numbers	Ochratoxin A (μ g/kg)	>10 μ g/kg Ochratoxin A
肉桂	23			
八角茴香	23	3	0.46 – 1.73	0
小茴香	23			
丁香	23			
胡椒	23	8	0.38 – 13.22	2
花椒	23			
薑黃	23	23	1.38 -- 19.85	6
鬱金	23			
莪朮	23			
荳蔻	23			

表4、臺灣地區中藥材內伏馬毒素B1、T2毒素的污染狀況

Crude drugs	Collected numbers	Contained numbers	Fomonisin B1 (mg/kg)	T 2 (µg/kg)
黃耆	20			
薏苡仁	20	FB1(8/20) T2(3/20)	0.122-1.534	47.50-89.53
延胡索	20			
蓮子	20	FB1(5/20)	0.249-11.820	
紅棗	20			
大腹皮	20			
女貞子	20			
山楂	20			
山茱萸	20			
枸杞子	20			
橘皮	20			
五味子	20			
淡豆豉	20	T2 (2/20)		25.3-65.5
牛膝	20			
當歸	20			
地黃	20			
白朮	20			
澤瀉	20			
甘草	20			

表5、中藥櫃儲存組赭麴毒素(OTA)、伏馬毒素(FB1, mg/kg)、T2毒素(T2)調查研究

Crude drugs	三個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	六個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	九個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	十二個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
神麴	OTA-6.5	OTA-6.8	OTA-6.6	
肉桂	ND	ND	ND 八	
角茴香	ND	OTA-0.3	OTA-0.8	
小茴香	ND	ND	ND 丁	
香#	ND	ND	OTA-3.5	
胡椒	ND	OTA-13.6	OTA-15.6	
花椒#	ND	ND	ND 薑	
黃	OTA-6.4	OTA-6.4	OTA-23.4	
鬱金	ND	ND	ND 莪	
朮#	ND	ND	ND 荳	
蔻	ND	ND	ND	
黃耆	ND	OTA-13.4 FB1-1.2	OTA-15.4 FB1-1.1	
薏苡仁	ND	ND	FB1-21.2	
延胡索	ND	ND	ND 蓮	
子	ND	ND	ND	
紅棗	ND	OTA-15.8	OTA-32.8	
大腹皮	ND	ND	ND 女	
貞子#	ND	ND	ND 山	
楂	ND	ND	ND 山	
茺蔚	ND	ND	ND 枸	
杞子	ND	OTA-8.1	OTA-16.8	
橘皮	ND	ND	ND	
五味子	T2-1.5	T2-ND OTA-1.7	OTA-1.7	
淡豆鼓	ND	ND	OTA-15.5	
牛膝	ND	ND	OTA-2.6	
當歸	ND	OTA-8.6	OTA-9.7	
地黃	ND	ND	ND 白	
朮	ND	ND	ND 澤	
瀉	ND	ND	ND 甘	
草	ND	OTA-5.9	OTA-19.1	

表6、冷藏儲存組(4°C) 赭麴毒素、伏馬毒素、T2毒素調查研究

Crude drugs	三個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	六個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	九個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	十二個月 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
神麴	OTA-6.3	OTA-6.6	OTA-6.6	
肉桂	ND	ND	ND	
八角茴香	ND	ND	ND	
小茴香	ND	ND	ND	
丁香 [#]	ND	ND	ND	
胡椒 [#]	ND	ND	ND	
花椒	ND	ND	ND	
薑黃	ND	ND	ND	
鬱金	ND	ND	ND	
莪朮 [#]	ND	ND	ND	
荳蔻	ND	ND	ND	
黃耆	ND	ND	OTA-1.2	
薏苡仁	ND	ND	ND	
延胡索	ND	ND	ND	
蓮子	ND	ND	ND	
紅棗	ND	OTA-6.6	ND	
大腹皮	ND	ND	ND	
女貞子 [#]	ND	ND	ND	
山楂	ND	ND	ND	
山茱萸	ND	ND	ND	
枸杞子	ND	ND	ND	
橘皮	ND	ND	ND	
五味子	ND	ND	ND	
淡豆豉	ND	ND	ND	
牛膝	ND	ND	ND	
當歸	ND	ND	ND	
地黃	ND	ND	ND	
白朮	ND	ND	ND	
澤瀉	ND	ND	ND	
甘草	ND	ND	ND	

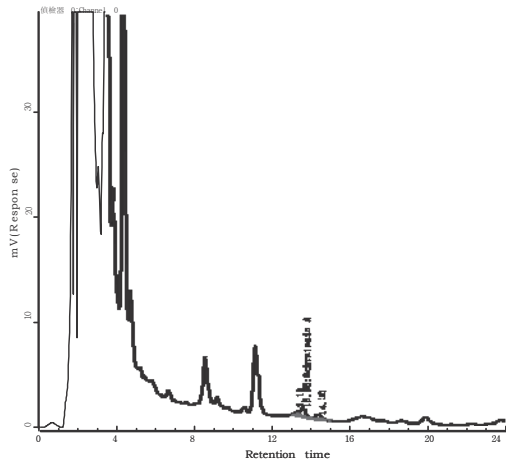
表 7、中藥材受黴菌毒素(赭麴毒素 A、伏馬毒素 B1、T2 毒素)的污染狀況

藥材	赭麴毒素 A ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	伏馬毒素 B1 (mg/kg)	T2 毒素 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
神麴	0.29–36.78 (33/35)	—	—
肉桂	ND	—	—
八角茴香	0.46 – 1.73 (3/23)	—	—
小茴香	ND	—	—
丁香	ND	—	—
胡椒	0.38 – 13.22 (8/23)	—	—
花椒	ND	—	—
薑黃	1.38 -- 19.85 (23/23)	—	—
鬱金	ND	—	—
莪朮	ND	—	—
荳蔻	ND	—	—
黃耆	—	ND	ND
薏苡仁	—	1.22-15.34 (8/20)	47.50-89.53(3/20)
延胡索	—	ND	ND
蓮子	—	2.49-118.20 (5/20)	ND
紅棗	—	ND	ND
大腹皮	—	ND	ND
女貞子	—	ND	ND
山楂	—	ND	ND
山茱萸	—	ND	ND
枸杞子	—	ND	ND
橘皮	—	ND	ND
五味子	—	ND	ND
淡豆豉	—	ND	25.3-65.5(2/20)
牛膝	—	ND	ND
當歸	—	ND	ND
地黃	—	ND	ND
白朮	—	ND	ND
澤瀉	—	ND	ND
甘草	—	ND	ND

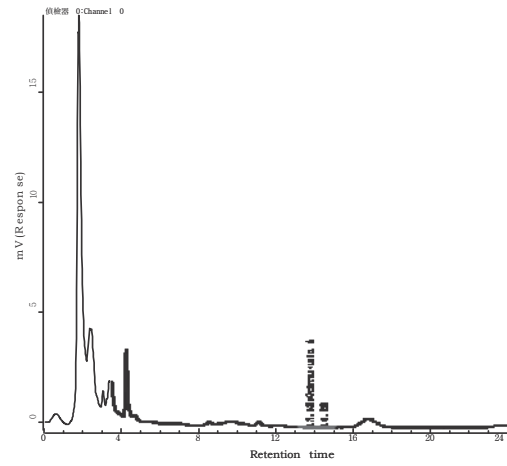
ND : Non Detected

— : No Test

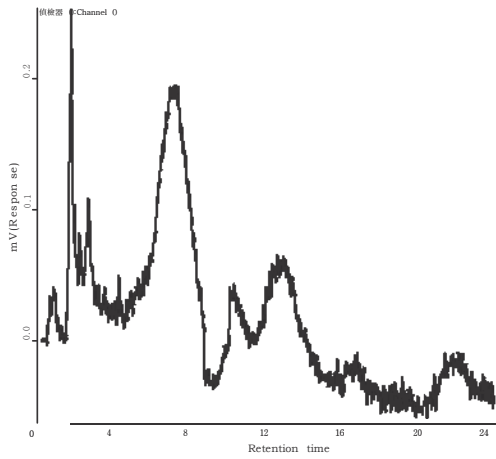
LOD : 赭麴毒素 A 0.01ng/ml, 伏馬毒素 B1 30 ng/ml, T2 毒素 1.0 ng/ml



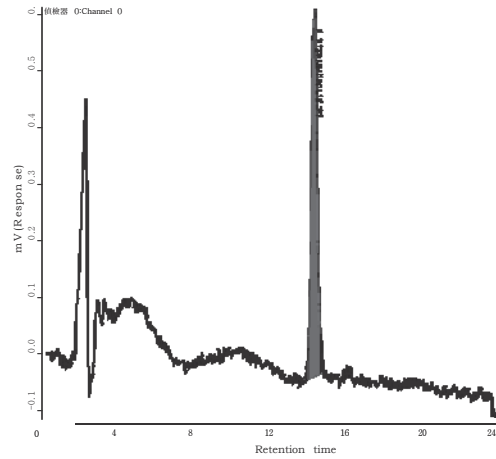
1--Filtrate (without treatment)



2- Wash with 10mL PBS



3-Wash with 10mL H₂O



4-Elute with methanol

圖3 神麴經免疫管純化前後赭麴毒素A的高效液相層析圖

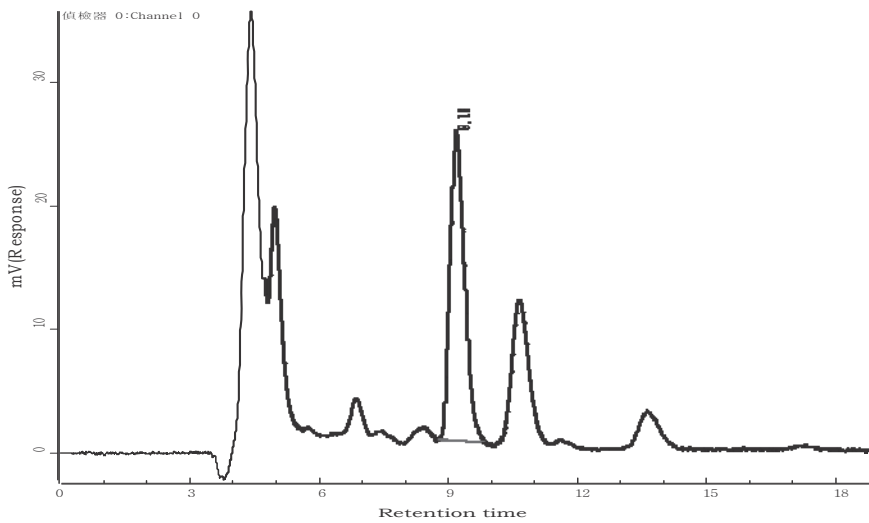


圖4 薏苡仁內伏馬毒素經免疫親管管沖提及鄰苯二甲醛 (o-phthalaldehyde) 衍生化圖

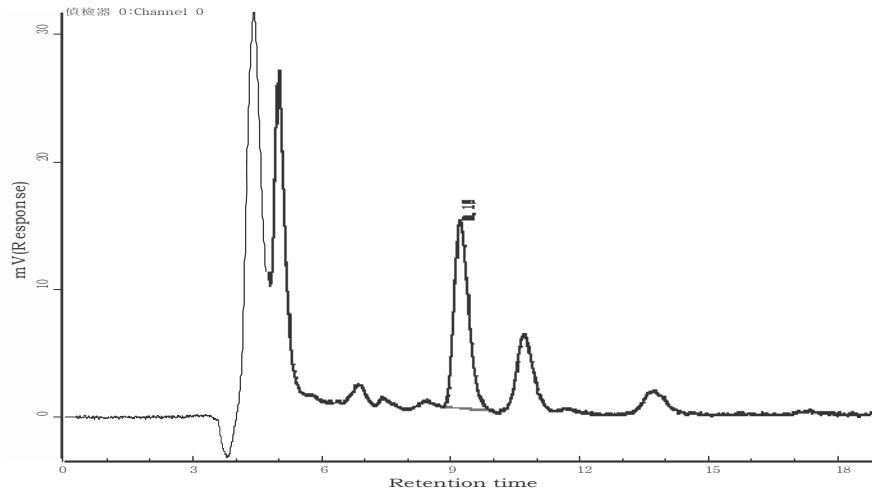


圖5 蓮子內伏馬毒素B1經免疫親管管沖提及鄰苯二甲醛(o-phthaldialdehyde)衍生化圖

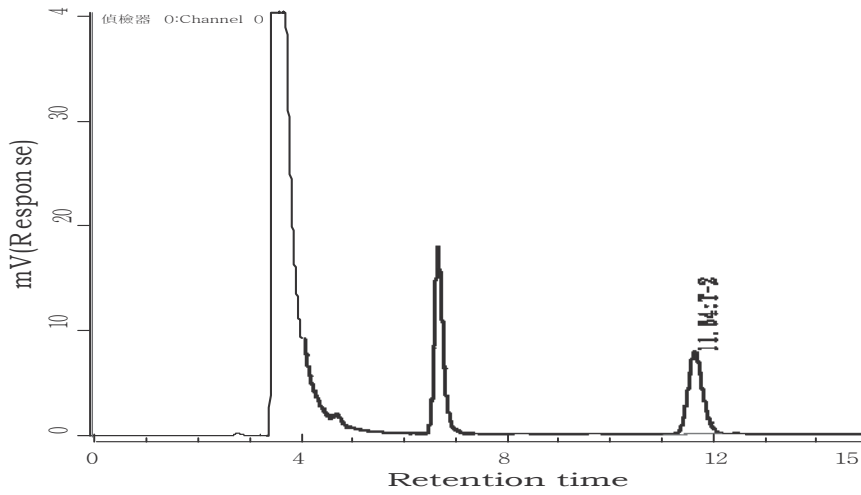


圖6 T2毒素標準品(1.5 μ g/ml)經免疫親管管沖提及以1-Anthroylnitrile衍生化圖

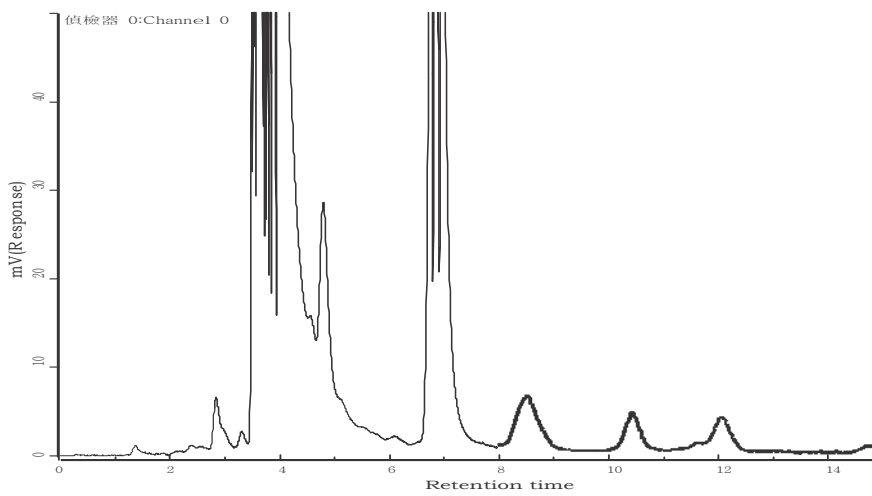


圖7 淡豆鼓內T2毒素經免疫親管管沖提及以1-Anthroylnitrile衍生化圖