

出國報告（出國類別：技術協助）

赴巴拉圭技術協助
「動物產品品質檢驗與管制」

服務機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局

姓名職稱：曾素香副研究員

周珮如薦任技士

出國地區：巴拉圭

出國期間：94年5月21日至30日

報告日期：94年8月12日

列印

提要表

系統識別號：	C09402837					
計畫名稱：	赴巴拉圭技術協助「動物產品品質檢驗與管制」					
報告名稱：	赴巴拉圭技術協助「動物產品品質檢驗與管制」					
計畫主辦機關：	行政院衛生署藥物食品檢驗局					
出國人員：	姓名	服務機關	服務單位	職稱	官職等	E-MAIL 信箱
	曾素香	行政院衛生署藥物食品檢驗局	第四組	副研究員	薦任(派)	聯絡人open@rdec.gov.tw
	周珮如	行政院衛生署藥物食品檢驗局	第四組	薦仕技士	薦任(派)	
出國地區：	巴拉圭					
參訪機關：						
出國類別：	其他					
出國期間：	民國94年05月21日 至 民國94年05月30日					
報告日期：	民國94年08月12日					
關鍵詞：	動物用藥, 農藥, 巴拉圭, 動物產品, 技術協助					
報告書頁數：	103頁					
報告內容摘要：	<p>「第14屆中巴(巴拉圭)經濟合作會議」決議，派我國專家赴巴拉圭技術協助「動物產品品質檢驗與管制」。巴拉圭之肉品外銷影響經濟層面大，故其品質檢驗管制極為重要。此次巴拉圭技術協助案達成之任務為：一、評估巴拉圭動物殘留管制實驗室：就其實驗室現有之檢驗業務、儀器設備及人員素質進行評估，提出提升檢驗品質之具體建議，供我駐巴拉圭經濟參事處提供儀器設備等資源援助之參考。二、檢驗技術協助：提供我國動物檢體中動物用藥多重殘留分析、持久性污染物-多氯聯苯及有機氯劑之檢驗方法，示範「雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析-基質固相分布法」，並講授及討論實驗室品管相關議題，包括「檢驗儀器之校正方法」、「分析方法之確效」、「量測不確定度之評估」、「實驗室品質管制相關文件」等。此次考察行程，建立了中巴雙方技術協助之溝通管道，具有提升巴國檢驗技術之開發能力、操作技巧及檢驗精準度等功能，並提出儀器設備添購品項之具體建議，為本國外交事務盡一份心力。</p>					
電子全文檔：	C09402837_01.pdf					
附件檔：						
限閱與否：	否					
專責人員姓名：	呂在綸					
專責人員電話：	02-26531326					

列印

Recommendations for Residue Control Laboratory in Paraguay

The drug residue analytical work in Residue Control Laboratory (RCL) is very important for Paraguay and related to its meat export income. We evaluate the laboratory for its annual work project, personnel, and equipment in May 23-27, 2005. The overall comments and recommendations are as follows.

1. The director, chemical analysts, and workers in RCL show their sincere activity in their work. They try to resolve problems and perform the best in limited budget.
2. The equipments in RCL include GC-ECD, GC-FPD, HPLC, GC/MS, AA, ELISA, and RIA. Most of the analytical equipments in RCL have been used for more than 10 years, and some of them can't function now. Some routine analytical items, such as quinolones, benzimidazoles, nitrofurans and so on, can't go on smoothly due to the equipment problem. The current status of these equipments is shown in Table 1.

Table 1. Equipment status in residue control laboratory

Item	Equipment	Status	Application
1	Gas Chromatography (GC)	3 sets GC-ECD (2), GC-FPD (1) One GC-ECD is broken, and can't be repaired. The only one GC-ECD is used for both PCBs and organochlorine pesticides analysis. Changing column is needed for different analysis.	Pesticides (organophosphorus pesticides & organochlorine pesticides) and PCBs
2	Liquid Chromatography (LC)	2 sets One Shimadzu LC set can't work due to computer problem. The repair cost is very high.	Sulfadruugs Quinolones Nitrofurans
3	GC/MS	1 set (Shimaszu System) It can't run due to "leak carrier" problem. The repair cost is very high.	Confirmation of detected drugs or contaminants
4	AA	1 set	Heavy metal
5	ELISA	1 set	Beta-agonist Anabolic hormone
6	Radio Immunoassay (RIA)	1 set (broken)	Anabolic hormone

3. Some suggestions according to the work loading and equipment status in RCL are listed in Table 2.

Table 2. Suggestions for residue control laboratory

Priority	Required Equipment	Suggestion	Remark
1	GC/MS	Repair the Shimadzu GC/MS or by a new one	A GC/MS is useful equipment for confirming drug residue in foods. There is a risk if announcing a result merely by GC analysis.
2	HPLC	Repair the Shimadzu LC or by a new one	Some veterinary drugs, such as quinolones, could be analyzed.
3	GC	Purchase a new GC equipped with autosampler, ECD, and FPD.	A new GC equipped with both ECD and FPD detector can determine OC & OP pesticides in foods. The old GC-ECD can determine PCBs in foods.
4	LC/MS/MS	Purchase a LC/MS/MS for determining nitrofurans metabolites in meats.	Meet the EU requirement for analyzing drug residue in foods.
5	Gas generator	Purchase N ₂ , H ₂ , or Air gas generators.	Supply the gas for analytical equipment.

4. Keeping good maintenance of equipments is very important for a laboratory. When purchasing new equipments, laboratory should consider the service ability of supplier and the cost of routine maintenance and repairing.

Tseng, Su-Hsiang (Associate Researcher)
 Chou, Pei-Ju (Associate Technical Specialist)
 Bureau of Food and Drug Analysis
 Department of Health, Executive Yuan
 Republic of China

Date: Aug. 11, 2005

摘要

「第 14 屆中巴(巴拉圭)經濟合作會議」決議，派我國專家赴巴拉圭技術協助「動物產品品質檢驗與管制」。巴拉圭之肉品外銷影響經濟層面大，故其品質檢驗管制極為重要。此次巴拉圭技術協助案達成之任務為：一、評估巴拉圭動物殘留管制實驗室：就其實驗室現有之檢驗業務、儀器設備及人員素質進行評估，提出提升檢驗品質之具體建議，供我駐巴拉圭大使館經濟參事處提供儀器設備等資源援助之參考。二、檢驗技術協助：提供我國動物檢體中動物用藥多重殘留分析、持久性污染物-多氯聯苯及有機氯劑之檢驗方法，示範「雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析--基質固相分布法」，並講授及討論實驗室品管相關議題，包括「檢驗儀器之校正方法」、「分析方法之確效」、「量測不確定度之評估」、「實驗室品質管制相關文件」等。

此次考察行程，建立了中巴雙方技術協助之溝通管道，具有提升巴國檢驗技術之開發能力、操作技巧及檢驗精準度等功能，並提出儀器設備添購品項之具體建議，為本國外交事務盡一份心力。

目次

壹、目的.....	1
貳、過程.....	2
一、行前準備.....	2
二、工作日誌.....	5
三、工作內容.....	7
參、心得.....	9
肆、建議.....	11
伍、附件.....	13
附件一：巴拉圭研擬之計畫書.....	13
附件二：國家報新聞.....	15
附件三：協助巴拉圭動物產品品質檢驗與管制考察行程表.....	16
附件四：專題演講內容.....	19
附件五：實驗室品管議題參考資料.....	61
附件六：巴國殘留管制實驗室檢驗收件單.....	80
附件七：巴國殘留管制實驗室 2005 年工作計畫.....	81
附件八：赴巴拉圭技術協助之經驗分享.....	86

壹、目的

巴拉圭肉品外銷占國內生產總值(Gross Domestic Product, GDP)之 8%，經濟影響層面大，故其品質檢驗管制極為重要，巴方農牧部表示其儀器設備老舊，希我方捐贈相關檢驗設備以利外銷，並提供新檢驗技術之協助。依據「第 14 屆中巴(巴拉圭)經濟合作會議」決議，派我國專家赴巴技術協助「動物產品品質檢驗與管制」，為期一週。

此行之目的有二，一為評估巴拉圭殘留管制實驗室(Residue Control Laboratory)現有之檢驗業務、儀器設備及人員素質等進行評估，提出儀器援助之具體建議事項，供駐巴拉圭經濟參事處參考。一為提供新的檢驗方法及技術，包括「動物用藥多重殘留檢驗方法」、「動物檢體中持久性污染物-多氯聯苯檢驗方法」及「動物檢體中持久性污染物-有機氯劑檢驗方法」之介紹及實習課程--「雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析--基質固相分布法」，並根據動物殘留管制實驗室所提需要，講授及討論實驗室品管相關議題，包括「檢驗儀器之校正方法」、「量測不確定度之評估」、「實驗室品質管制相關文件」等。冀望藉由此次考察行程，建立中巴雙方技術協助之溝通管道、提升巴國檢驗技術之開發能力、操作技巧及檢驗精準度，使該實驗室之功能更為完整強大，並提出儀器添購之具體建議，供駐外單位經濟部參事處參考，為本國外交事務盡一份心力。

貳、過程

一、行前準備

本局相當重視此次技術協助案，職等行前在 5 月 11 日於本局「國際事務溝通群組」會議中報告「赴巴拉圭技術協助計畫書」，會中長官及同仁提供許多寶貴建議及經驗分享。職等在出國前先行蒐集當地國情資料，獲知經濟部標準檢驗局王煥龍科長曾於民國 88 年赴巴國進行 3 個月之技術協助，由其出國報告及口述中瞭解了當時巴國實驗室儀器設備及人員之概略情形，對我們的準備工作相當有幫助。我們除了準備技術性文件外，亦攜帶了藥物食品檢驗局之介紹短片、中英文宣傳手冊及藥物食品分析期刊等資料，藉此機會讓巴拉圭實驗室瞭解我們實驗室之運作情形（而我們帶去巴國之特產包種茶及牛軋糖等極受歡迎）

「赴巴拉圭技術協助計畫書」

提案日期：94 年 5 月 11 日

(一) 源起：「第十四屆中巴(巴拉圭)經濟合作會議」決議，派我國專家赴巴協助動物產品品質檢驗與管制。

(二) 辦理方式：依據巴方計畫書(附件一)所提技術需求，派員針對動物用藥、環境污染物及農藥等進行「新分析技術」之協助及訓練。

選派人員：曾素香副研究員、周珮如薦仕技士

行程表：

日期	地點	地點
2005.5.21	起程	台北—巴西—亞松森
2005.5.22~5.27	講授動物檢體中殘留農藥及動物用藥分析技術及技術指導	亞松森 “Residue Control Laboratory”
2005.5.28~5.30	返程	亞松森—巴西—台北

(三) 背景分析：

巴拉圭肉品外銷占國內生產總值(Gross Domestic Product, GDP)之 8%，經濟影響層面大，故其品質檢驗管制極為重要，巴方農牧部表示其儀器設備老舊，希我方捐贈相關檢驗設備以利外銷。

以下資料來源摘錄自經濟部標檢局王煥龍科長出國報告(88 年)

1. 巴拉圭農牧部殘留管制實驗室之硬體設備有氣相層析質譜儀、氣相層析儀、高效液相層析儀、原子吸收光譜儀、ELISA 及放射性免疫分析儀等。
2. 動物殘留管制計畫中之檢驗項目及使用方法：
 - (1) 重金屬(砷、鉛、鎘、汞)：以 AA 檢測。
 - (2) 有機磷劑及有機氯劑：以 GC 檢測。
 - (3) 磺胺劑及其他抗菌劑：以 HPLC 檢測。
 - (4) 蛋白同化荷爾蒙及乙型受體素：以放射性免疫分析儀分析，ELISA 則在試驗中。
 - (5) 抗生素以 Swab test 先做篩選，如有陽性反應，再以生化法分析。

(四) 技術協助內容：

駐巴參事處將安排翻譯人員陪同全程技術協助，可將中文或英文講解內容翻譯成西班牙文。參考資料之呈現部分，法規及我國監測計畫內容為中英對照，檢驗方法及技術部分，為避免專門術語翻譯上之誤差，將以英文為主。

技術協助內容分為專題演講、實習課程及綜合討論三大部分，列述如下：

專題演講：

1. 行政院衛生署藥物食品檢驗局短片簡介及 GLP 概念解說
2. 我國相關法規、進口及市售動物檢體藥物、污染物殘留監測項目
 - (1) 85.2.12 衛署食字第 85010179 號
禽畜產品中殘留農藥限量標準 (中文版、英文版)
 - (2) 94.4.15 衛署食字第 0940403032 號
動物用藥殘留標準 (中文版、英文版)
3. 動物用藥多重殘留檢驗方法
檢測項目：13 種動物用藥，包括 8 種磺胺劑、clopidol、carbadox 等

參考資料：[J. Food Drug Anal. 9\(2\): 84-95 \(2001\) \(PDF\)](#)

4. 合成抗菌劑 Quinolones 類多重殘分析法

檢測項目：7 種 quinolones，包括 nalidixic acid, oxolinic acid, sarafloxacin 等

參考資料：[J. Food Drug Anal. 11\(2\): 114-127 \(2003\) \(PDF\)](#)

5. 動物檢體中持久性污染物檢驗方法之介紹

檢測項目：包括 α -BHC、 β -BHC、lindane 等 14 種有機氯劑及三氯取代(No.28、37)、四氯取代(No.44、49)等 27 種多氯聯苯同源物。

參考資料：J AOAC Int. 85(6): 1398-1409、中國國家標準 CNS14835、行政院衛生署九十三年度科技發展研究計畫-台灣地區蛋類及畜肉中多氯聯苯殘留量調查。

實習：雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析--基質固相分布法 (matrix solid phase dispersion, MSPD)技術之應用

本研究參考中國國家標準 CNS14835，開發出以 MSPD 進行檢體前處理之分析技術。此法係將檢體與吸附劑混合，充填入矽酸鎂固相萃取匣，再以丙酮和正己烷混合溶液為沖提溶劑，可萃取出雞蛋中有機氯劑並達去除雜質之效果，此方法簡單、快速並且僅使用少量的有機溶劑，值得推廣。

綜合討論：

參訪對方實驗室現有之儀器設備及討論其採用之檢驗方法，並提出建議事項。

(五) 預期成果：

1. 建立技術協助溝通管道：藉此行實際參訪巴方實驗室及瞭解檢驗狀況後，未來將更能掌握對方實際需要，將有用之檢驗相關資訊直接或透過我駐巴經濟參事處供對方參考。
2. 提升巴國檢驗技術之開發能力：透過專題演講說明我國檢驗方法開發之流程、架構、研究成果以及分析方法可行性之評估，將有助於提升巴國檢驗方法開發能力。
3. 操作技巧及檢驗精準度之提升：透過實習課程之操作及綜合討論，可傳遞一些實驗技巧及實驗室品管觀念，使其檢驗結果更具精準性。

二、工作日誌

巴拉圭十分重視此次考察行程，我國兩位專家赴巴國進行技術協助之新聞並刊登於5月21日巴國平面新聞媒體「國家報」(附件二)。

2005/05/22(日)

抵達亞松森。

2005/05/23(一)

- (一) 拜會大使館林公使信行：與公使之言談，使我們更瞭解中巴外交上之互動情形及此次技術協助案之目的。
- (二) 參觀巴國動物衛生品管局(SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SALUD ANIMAL, SENACSA)檢驗室，由單位主管及實驗室留守人員簡單介紹微生物實驗室及殘留管制實驗室(Residue Control Laboratory)之儀器設備概況。

2005/05/24(二)

- (一) 針對殘留管制實驗室之儀器現況進行評估，瞭解每台儀器購入之年份、運轉情形及使用頻率：GC 三台，一台故障報廢；HPLC 二套，一套故障；AA 一台，正常使用中；免疫分析儀故障中，氣相層析質譜儀故障中。故障之儀器目前皆無本地儀器商可以協助修復，由原廠派員修復費用皆相當高。大部分之機器為1993年購入，使用年限在10年以上。
- (二) 綜合討論(分析儀器之校正方法)：說明藥檢局儀器之校正方法及規範供參。
- (三) 實習課程：示範雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析—基質固相分布法(matrix solid phase dispersion, MSPD)新技術之應用，製備得兩組檢液(空白組及外添加100 ppb 農藥組)。
- (四) 測試隔日簡報所須相關配備：於演講場測試電腦、單槍等設備。

2005/05/25(三)

第一部分：介紹本局開發之動物檢體中動物用藥及持久性污染物殘留分析法
簡報(一)合成抗菌劑 Quinolones 類多重殘留分析法
簡報(二)台灣地區蛋及肉品中有機氯劑殘留監測計畫

簡報(三)動物用藥多重殘留檢驗方法

簡報(四)台灣地區蛋及肉品中多氯聯苯殘留監測計畫

第二部分：行政院衛生署藥物食品檢驗局組織及功能簡介及台灣相關法規及監測計畫

簡報一：行政院衛生署藥物食品檢驗局短片

簡報二：台灣動物產品中農藥及動物用藥殘留標準相關法規及藥物監測項目之介紹

簡報內容留紙本及電子檔供參。

綜合討論(實習結果)：針對實習所得檢液獲得之 GC-ECD 所得層析圖進行解說，教導單點比對計算回收率之方法及由層析圖獲得正確結果之技巧及注意事項。

2005/05/26(四)

資料蒐集：為瞭解殘留管制實驗室之工作情形，與實驗室主管洽談，瞭解了相關單位組織架構及實驗室 2005 年度計畫之檢驗項目及件數。

課程：檢附課程相關資料，包括 EUROCHEM 之 uncertainty 及 traceability 電子檔資料)

(一)方析方法之確效(validation methodology of assays)

(二)量測不確定度之測量技巧(measuring techniques of uncertainty)

(三)實驗室品質系統所需文件介紹

綜合討論(方法之 LOD 及 LOQ):針對分析方法之 LOD 及 LOQ 評估方法進行討論。

2005/05/27(五)

拜會中華民國駐巴拉圭東方市總領事館。

書寫工作日誌及整理待回覆問題。

三、工作內容

本次工作內容分為技術協助及巴國實驗室設備評估兩大部分，分述如下：

(一)技術協助部份

除了原計畫書部分外，又新增了一些巴國殘留管制實驗室所提有關實驗室品保項目，這些項目是我們抵達巴國後才得知的，故未事先列於計畫書中。5月22日職等抵達巴國時駐巴拉圭經濟參事處黃秘書交付「行政院衛生署藥物食品檢驗局曾副研究員素香、周技士珮如協助巴拉圭動物產品品質檢驗與管制考察行程表」(附件三)，其中包含講解實驗室品保方面之儀器查核方法、量測不確定度及品質系統相關文件等主題，此部分議題係巴國實驗室及我國外交單位研擬完成考察行程表時才決定，而當時我們已在赴巴旅途中故並未事先告知。我們22日中午抵達旅館後馬上傳真新增議題及我們所需電子文件回本組蘇科長，順利於第二天取得相關電子資料，並在經參處黃秘書之協助下列印出來。我們則利用行程空檔及晚上於飯店之時間，針對新增議題進行講解課程之準備，順利完成任務。

5月24日上午進行專題演講，內容包括二大部分：(詳見附件四)

第一部分、介紹本局開發之動物檢體中動物用藥及持久性污染物殘留分析法

- (1)合成抗菌劑 Quinolones 類多重殘留分析法
- (2)台灣地區蛋及肉品中有機氯劑殘留監測計畫
- (3)動物用藥多重殘留檢驗方法
- (4)台灣地區蛋及肉品中多氯聯苯殘留監測計畫

第二部分、行政院衛生署藥物食品檢驗局組織及功能簡介及台灣相關法規及監測計畫

- (1)行政院衛生署藥物食品檢驗局簡介
- (2)台灣動物產品中農藥及動物用藥殘留標準相關法規及藥物監測項目之介紹

實習課程部分，示範雞蛋中有機氯劑之多重殘留分析--基質固相分布法 (matrix solid phase dispersion, MSPD)技術之應用。

講授及討論實驗室品管相關議題部分，有以下五大主題，參考資料見附件五。

- (1) 分析儀器之校正方法(calibrating methodology of analytical)。
- (2) 方析方法之確效(validation methodology of assays)。
- (3) 量測不確定度之測量技巧(measuring techniques of uncertainty)。
- (4) 實驗室品質系統所需文件介紹(presentation of documents related to quality systems in laboratories)。
- (5) 分析方法之最低檢出限量(limit of detection, LOD)及最低定量極限(limit of quantification, LOQ)。

(二) 巴國實驗室設備評估

巴國表示該國動物產品品質管制實驗室之設備已老舊，希望我方捐贈相關檢驗設備以利外銷。我方希能在我國專家評估後再決定經費援助之項目及金額，並採公開透明採購方式使援助之金錢真正發揮作用。在與經濟部駐巴國林公使會面時，表示希望我們能夠對於該實驗室之設備狀況進行評估，以作為以後我方捐贈相關檢驗設備之參考。職等即針對巴國殘留管制實驗室之儀器現況進行評估，包括瞭解每台儀器購入之年份、運轉情形及使用頻率等。

經與該實驗室之主管會談及實地參訪該實驗室之結果，該實驗室目前之儀器狀況為：氣相層析儀(GC)三台，一台故障報廢；高效液相層析儀(HPLC)二套，一套故障；原子分析光譜儀(AA)一台，正常使用中；免疫分析儀故障中，氣相層析質譜儀故障中。故障之儀器目前皆無本地儀器商可以協助修復，由原廠派員修復費用皆相當高。大部分之機器為 1993 年購入，使用年齡在 10 年以上。

SENASCA 所屬動物產品檢驗室為巴拉圭國內唯一檢驗肉品之實驗室，國內屠宰場只能把屠肉送到此實驗室檢驗藥物殘留，如果此實驗室不能檢驗的項目，就必須送到國外的實驗室。此實驗室不對送驗者收費，屠宰場和出口公司付每年付固定費用給 SENASCA 之後，SENASCA 才撥部份至該實驗室，故其業務無法成為財源，業務量的多寡也與其經費多寡無關。該實驗室之檢驗檢體包括肝、肌肉、腎等組織，而其分析項目則包含 DES、beta-agonist、quinolones 等(附件六檢驗收件單註記 X 部份)，但 Nitrofurans 等多個分析項目(附件六註記●部分)，目前因為儀器故障無法檢驗。依該實驗室之 2005 年工作計畫(附件七)，原欲進行大約 2200 件檢驗案，目前亦因儀器故障無法檢驗造成進度落後。

參、心得

「藍天、綠地、紅土」是我們在飛機將抵達巴拉圭亞松森機場時映入眼簾的第一印象，在巴國所接觸到的人民都十分熱情友善，當地的道路和建設雖不如先進國家那樣進步，但相對於先進國家城市宛如水泥叢林的冷漠，更顯其獨特的樸拙的美感。旅館溫馨舒適，公共場所衛生條件甚佳，完全顛覆我們行前對於巴拉圭的刻板印象。十分感謝中華民國駐巴拉圭大使館各單位同仁的熱情招待，包括林公使信行夫婦、經濟部林參事燦輝夫婦、張參事漢生夫婦、黃秘書進盛夫婦、國防武官何武官秉麟夫婦、新參處王秘書夫婦、新參處林秘書禹貞，鄭秘書雨聰夫婦、教育部楊秘書、文參處黃秘書、東方市領事、吳副領事瑞發及東方市中華會館徐副理事瑞總...等。駐外單位人員聚會總是夫唱婦隨令人印象深刻也令人羨慕。在此要特別感謝的是經濟部林參事和黃秘書，給予我們工作上的極大的協助，尤其是黃秘書在我們盤纏將罄時自掏腰包借我們美金，真是非常感謝。此行中尚有一位靈魂人物-中西翻譯董佼靈小姐，她是隨著母親移民巴拉圭華僑，目前就讀亞松森大學醫學院五年級，精通西班牙語，因曾在台灣讀華僑中學所以中文亦佳。我們在 SENASCA 的三天所幸有董小姐擔任翻譯，使我們和該實驗室人員得以有效溝通，大大提昇了工作的效率。當然我們也非常感謝指派我們出差的藥檢局長官們，雖是主要任務是工作，但也給我們機會到此位於南美洲、在地球儀上和台灣相距最遠、單程飛行就要將近 30 小時的美麗國家，體驗不同的人文風情，深刻感受「讀萬卷書不如行萬里路」。還有要感謝蘇科長淑珠和三科同仁給予的後勤支援，讓我們能順利完成工作。

氣候溫和、少有天災、土地面積廣大但人口稀少造就了巴拉圭得天獨厚的畜牧環境，肉品外銷對於該國的經濟層面影響甚鉅。由於歐盟等先進國家組織於進口食品中有害物質的檢驗標準越來越嚴苛，故功能完整的動物產品檢驗實驗室對於巴拉圭來說相當重要，SENASCA 是巴國唯一的動物產品檢驗實驗室，目前因受限於經費不足儀器維修困難及儀器老舊而無法有效發揮其檢驗功能。走筆至此，不禁為台灣的檢驗實驗室感到慶幸，不僅不會因為經費不足或儀器老舊造作工作停擺，當儀器故障須維時，只要打一通電話就可以得到儀器商良好的維修服務，相對於巴國實驗室無法於國內得到任何儀器商的支援，台灣的實驗室人員實在是太幸福了。

在與巴國 SENASCA 實驗室人員數日相處，了解該實驗室人員已有良好的檢驗知識基礎，也有良好的工作態度，對於其本身負責之工作均能勉力完成，但是由於經費和軟體設備不足，所以在先進國家十分普及的網路通訊管道，對於該實驗室人員來說不易取得，以致該實驗室在國際化能力無法及時跟上先進國家的腳步。

中華民國與巴拉圭是友誼深厚的邦交國家，若能夠給予巴國實質的協助促使該國動物產品品質檢驗實驗室發揮完整的功能並跟上國際化的腳步，應對於巴國經濟的發展有相當的助益。職等回國後於「國際事務溝通社群」第四次會議進行心得報告，時間為 94 年 6 月 14 日下午 2 時 30 分，地點為本局第 4 組會議室，由孫副局長慈悌主持，內容見附件八。

肆、建議

有關補助巴國 SANACSA 殘留管制實驗室設備更新乙案，建議如下：

實施順序	實驗室需求	預估費用* (NT\$)	說明
1	修復氣相層析儀譜儀(型號 GC-17A)乙套 **若無法修復則採購新設備	維修費用待估 氣相層析質譜儀乙套：200 萬	氣相層析質譜儀(型號 GC-17A)購於 1999 年，疑似儀器內部管路洩漏，以致面板出現”leak carrier”警訊，真空度無法達到操作要求，無法使用。氣相層析質譜儀是確認食品中藥物殘留相當有用之工具，將可使檢驗結果更具公信力。
2	修復 SHIMADZU 之高效液相層析儀器(型號 LC10A 等九個單項)乙組 **若無法修復則採購新設備	維修費用待估 高效液相層析儀乙套：150 萬	高效液相層析儀 (型號 LC10A 等九個單項)乙組：購於 1995 年，配備完整，於 2005 年初因主控電腦故障以致整組儀器停擺。此儀器可廣泛應用於動物用藥殘留檢驗。
3	添購氣相層析儀乙台 (附有二個檢出器, 可接二種不同之 column、附自動注射器及接收處理數據用之電腦相關配備)	200 萬	目前該實驗室有三台氣相層析儀： (1)GC-FPD (購於 1995 年)：使用中 (2)GC-ECD(購於 1993 年)：已故障停用,原廠工程師檢視後建議報廢 (3)GC-ECD(購於 1993 年)：用於 PCB 及有機氯劑檢驗，常更換 column 以應付不同案件。 以上三台儀器機齡均達十年以上，的確有更新之必要。使用自動注射器可提昇工作效率，亦可避免人為操作之誤差。
4	添購 LC/MS/MS (對方提出)	1,000 萬	應用於藥物殘留檢出之進一步確認及偵測微量禁用動物用藥殘留分析，以符合歐盟檢驗規範。
5	添購氫氣產生機、空氣產生機及氮氣產生機 (對方提出)	三合一整組(含管路)約 80 萬	氫氣、空氣及氮氣為儀器分析時必要之氣體。使用氣體產生機，未來即不用再花錢買氣體。

*經費估計乃依台灣實驗室之狀況粗略以新台幣估計，實際花費可能因巴國環境或政策和台灣不同而有出入。

以上五項需求，目前較迫切的項目為 1~3 項。

目前該實驗室最大之困難為儀器維修保養問題，常因小地方故障導致整部儀器停擺，儀器壞了為何不修？原因有二：

一、維修費用太高，該實驗室無法負荷。

二、巴國當地沒有原廠維修工程師，每次叫修都須從原產地(例如日本)派技師過來，不僅曠日費時且成本太高。即使在添購機器時於合約註明保固 10 年，但原廠技師一年才來一次，來了可能也沒有帶維修所需的零件。

該實驗室為巴國國內唯一進行動物用藥殘留檢驗之實驗室，工作人員及主管之工作態度均認真努力。該實驗室工作量大，目前因儀器故障等因素造成多項檢驗無法進行，故建議我方給予適度支援以維持實驗室運作。但是巴國必需就檢驗設備後續之維修、保養及教育訓練問題有妥善規劃，以避免儀器因故障而閒置之情形發生，採購機器時也務必將後續維護之方便性考量進去，可選擇就近(美國、巴西等)具有完善服務據點之廠商。

Strengthening Project Of Meat Residues Control Laboratory

Vice Ministry of Cattle, Republic of Paraguay

1. Introduction

The Paraguayan economy is sustained by the cattle raising, which is considered fundamental for its trade. For Paraguayan, regional and extra regional need in offering cattle origin innocuous products to the consumer, it has started the National Control Program of Meat and Derived Residues.

Although the National Control Program of Meat and Derived Residues is ruled by the Ordinance N° 15.685/96 - the control activities have begun in 1989 through an agreement among the Ministry of Agriculture and Cattle, the University of Veterinary Sciences and the National University of "Asunción" (UNA). Then, the work continued in their own building located in "San Lorenzo". The technical equipment has been donated by friend governments which allowed its independence saving time and financial resources.

Incorporating high technology equipment allowed the Residues Control Laboratory to fulfill the commitment assumed with the national and international community offering to the market innocuous food of cattle origin.

2. Justification

The Vice Ministry of Cattle responsible for the performance of the Residues Control Program supports the necessity of executing such program to maintain the conditions that allow the access of the meat or sub products to the international markets. Also, defends the development and maintenance of the protection politics to the consumer.

3. Objectives

The main objective is to guaranty the food innocuousness from animal origin by controlling emergent residuals from the use of veterinary medicines, environmental pollutants and anabolism hormones. Besides, to be part of the mechanism that guarantee the execution of the zoo sanitary conditions which fulfill the rules of the international trade inside the normative of OMC and other organisms like FAO, OIE and so on.

The meat export represents to Paraguay 8% of the GDP, so its economic importance can be deduced. The losses that could be generated by an inadequate control and rejection are difficult to evaluate with accuracy.

The Residues Control Laboratory with the cooperation of the Republic of China Government has the purpose of recovering its operability conditions. Furthermore, to strengthen its advanced condition in the analytic spectrum. The uninterrupted laboratory activity from its beginnings means intensive use of the equipments in the pesticides determination, PCBs, heavy metals, antibiotics, anabolic and use of veterinarian's medicine. That use causes waste, damage and failure that make equipments to be out of order and the need to be replaced. Also, to consider the acquisition of new equipments in order to continue with the analytic work to offer quality to the consumer and to protect the interests of the producers, private industrials and of the country in general.

4. Strategy

Requesting financial assistance to the Republic of China Government to buy needed equipment to maintain the National Program of Residues Control. Besides, ask for assistance and training to develop and implement new analytic techniques.

5. List of employees

Name	Study	Activity
Arnaldo Bavera	Veterinarian	Laboratory Chief
María Nereida Maidana	Biochemistry	Quality control
Mirtha de Vera	Analytic chemistry	Determining anabolism
Oscar Iglesias	Analytic chemistry	Determining veterinary medicine
Concepción López	Analytic chemistry	Processing sample of veterinary medicine
Adela Benítez	University student	Determining environmental pollutants
Francisco Rodas	Laboratory technique	Result report
Gustavo Volling	Chemistry	Determining heavy metal
David Bernis	University student	Processing sample of veterinary medicine
Dalia Insfrán	Secondary level	Cleaning
Diego Criscioni	University student	Sample transportation, identification and preparation



駐巴拉圭新參處剪報輯要

媒體名稱 LA NACION (國家報)	刊登日期	05年05月27日	版次 1 (Naciones)
內容摘要	(Empty space for content summary)		

MISIÓN TAIWANESA *Por los Negocios*
Llegan hoy expertas en salud animal

Compartirán experiencias sobre control sanitario de los productos de origen animal.

Hoy llegarán a Asunción dos especialistas del Ministerio de Salud de la República de China (Taiwán) para compartir experiencias, al tiempo de cooperar con las autoridades paraguayas. El objetivo es ejercer un control sanitario más estricto de los productos de origen animal, con el fin de mejorar la calidad de los productos paraguayos exportados.

Las especialistas son Emily Su-Hsiang Tseng y Candy Pei-Ju Chou, ambas investigadoras asociadas del Buró de Análisis de Alimentos y Drogas del Ministerio de Salud de la Re-

pública de China (Taiwán). La agenda de las expertas prevé mañana un recorrido por los laboratorios del Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (Senacsa), para realizar una evaluación de los equipos del Laboratorio de Control de Residuos y efectuar recomendaciones técnicas.

El martes proseguirá la evaluación del mencionado equipamiento laboratorial. Igualmente, explicarán las técnicas para determinar la existencia de pesticidas en los alimentos. A la tarde, se desarrollará la metodología de calibración de equipos analíticos.

行政院衛生署藥物食品檢驗局
曾副研究員素香、周技士珮如
「協助巴拉圭動物產品品質檢驗與管制」考察行程表

2005/5/22 星期日

10:30 RG8902 班機抵達亞松森市 (經參處同仁接機)
Hotel BOGGIANI 旅館 Check in
TEL: 595-21-605939

19:30 經參處晚宴 (Hiroshima 餐廳、便服)

2005/5/23 星期一

Lunes 23 de Mayo/Monday - May 23

10:30 自飯店出發至大使館 Salida del Hotel

11:00 - 12:00 拜會大使館林公使信行 Visita a la Embajada de Taiwán/Visit to the Embassy of the Republic of China (Taiwan)

12:30 - 14:00 午宴 Almuerzo/Lunch (邀請巴國農牧部官員參加、李園餐廳)

14:30 - 15:00 Bienvenida a los expertos y presentaciones/Welcome to the experts and presentations

15:00 - 15:30 巴國動物衛生品管局檢驗室
Visita a los Laboratorios del SENACSA/Visit to the laboratory of SENACSA

15:30 - 15:45 Café/Coffee

15:45 - 16:30 Evaluación sobre los equipos del Laboratorio de Control de Residuos y sugerencias/Evaluation on residues control laboratory and recommendations

2005/5/24 星期二

Martes 24 de Mayo/Tuesday - May 24

08:30 自飯店出發 (巴國農牧部備車，陪同人員 Mr. Mendoza)

08:30 - 10:30 Continuación de la evaluación sobre los equipos del Laboratorio de Control de Residuos/ Continuing with the evaluation on residues control laboratory

10:30 - 10:45 Café/Coffee

10:45 - 13:00 Técnicas analíticas para la determinación de pesticidas en alimentos/Analytical techniques to determine pesticides on food

13:00 - 14:30 Almuerzo/Lunch

14:30 - 16:00 Metodología de la calibración de equipos analíticos/Calibrating methodology of analytical equipments

2005/5/25 星期三

Miércoles 25 de Mayo

08:30 自飯店出發 (巴國農牧部備車，陪同人員 Mr. Mendoza)

08:30 - 10:30 Metodología de la validación de ensayos/Validation methodology of essays

- 10:30 - 10:45 Café/Coffee
- 10:45 - 13:00 Presentación de los expertos sobre las actividades e instalaciones de los laboratorios en Taiwán/Experts' presentation about activities and installation in Taiwan's laboratories
- 13:00 - 14:30 Almuerzo/Lunch
- 14:30 - 16:00 Continuación de la metodología de la validación de ensayos/Continuing with the validation methodology of essays

2005/5/26 星期四

Jueves 26 de Mayo

- 08:30 自飯店出發 (巴國農牧部備車, 陪同人員 Mr. Mendoza)
- 08:30 - 10:30 Técnicas de medición de incertidumbre/Measuring techniques of uncertainty
- 10:30 - 10:45 Café/Coffee
- 10:45 - 13:00 Continúa la técnica de medición de incertidumbre/Continuing with the measuring techniques of uncertainty
- 13:00 - 14:30 Almuerzo/Lunch
- 14:30 - 16:00 Continúa la técnica de medición de incertidumbre en los ensayos/Continuing with the measuring techniques of essays uncertainty

2005/5/27 星期五

Viernes 27 de Mayo

- 08:30 自飯店出發 (巴國農牧部備車, 陪同人員 Mr. Mendoza)
- 08:30 - 10:30 Presentación de las documentaciones relacionadas a los Sistemas de Calidad en los laboratorios/Presentation of documents related to quality systems in laboratories
- 10:30 - 10:45 Café/Coffee
- 10:45 - 13:00 Aclaraciones y precisiones sobre temas desarrollados/Making clear and accuracy on developed themes

2005/5/28 星期六

- 13:00 飯店 Check-out (經參處同仁接送)
- 13:30 午餐
- 15:30 赴機場
- 18:15 RG7311 班機離巴

聯絡電話：

駐巴拉圭大使館經濟參事處 TEL: 225117

林參事燦輝 手機: 0961-804420

黃秘書進盛 手機: 0961-851011/ 家中電話: 207257

2005年5月23日午宴賓客名單
Almuerzo ofrecido por el Sr. Antonio Lin,
Consejero Económico de la
Embajada de la República de China (Taiwan)

Fecha : Lunes 23 de mayo de 2005.

Hora : 12:30.

Lugar : Restaurante Shangri-la, Avda. Aviadores del Chaco c/San Martín,
teléfono 661.618.

Invitados

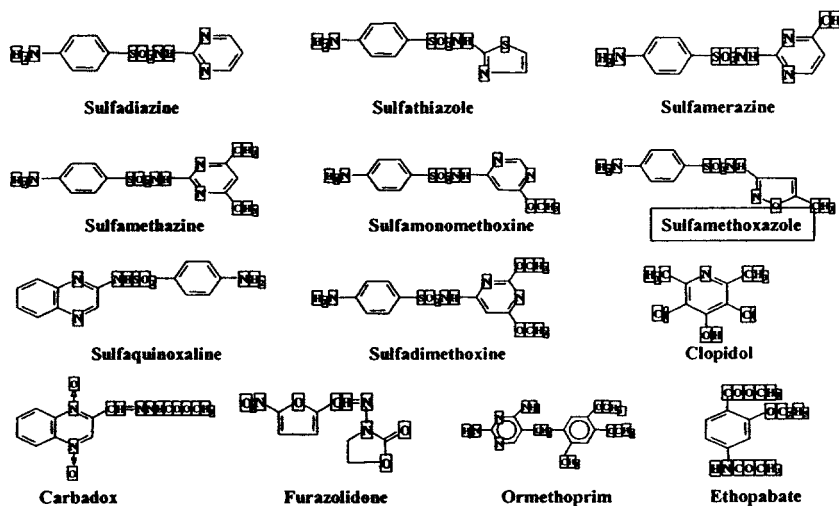
1. Dra. Natalia Vergara, Dirección General Laboratorio, SENACSA.
2. Dr. Ladislao Acosta, Dirección de Patología y Control de Alimentos, SENACSA.
3. Dr. Arnaldo Bavera, Jefatura de Departamento de Control de Residuos, SENACSA.
4. Dra. Nelly Ortiz, Dirección de Enfermedades en Programas, SENACSA (Segunda traductora).
5. Dra. Stella Maciel, Unidad de Asuntos Internacionales, Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA) (Primera traductora).
6. Ph.D. Emily Su-Hsiang Tseng (Experta), Investigadora Asociada, Buró de Análisis de Alimentos y Drogas (BFDA), Departamento de Salud de la República de China (Taiwan).
7. Srta. Candy Pei-Ju Chou (Experta), Especialista BFDA, Departamento de Salud de la República de China (Taiwan).
8. S.E. Sr. Frank Lin, Ministro, Embajada de la República de China (Taiwan).
9. Sr. Antonio Lin, Consejero Económico, Embajada de la República de China (Taiwan).
10. Sr. Félix Wang, Primer Secretario - Encargado de Prensa, Oficina del Consejero de Prensa, Embajada de la República de China (Taiwan).
11. Srta. Carolina Lin, Tercera Secretaria, Oficina del Consejero de Prensa, Embajada de la República de China (Taiwan).
12. Sr. Lucas Huang, Segundo Secretario, Oficina del Consejero Económico, Embajada de la República de China (Taiwan).

Multiresidue Determination of Veterinary Drugs in Chicken and Swine Muscle by High Performance Liquid Chromatography

Ref: J. Food Drug Anal. 9(2): 84-95. (2001)



Bureau of Food and Drug Analysis,
Department of Health, Executive Yuan,
Taiwan, R.O.C.



圖一、十三種動物用藥之化學結構式

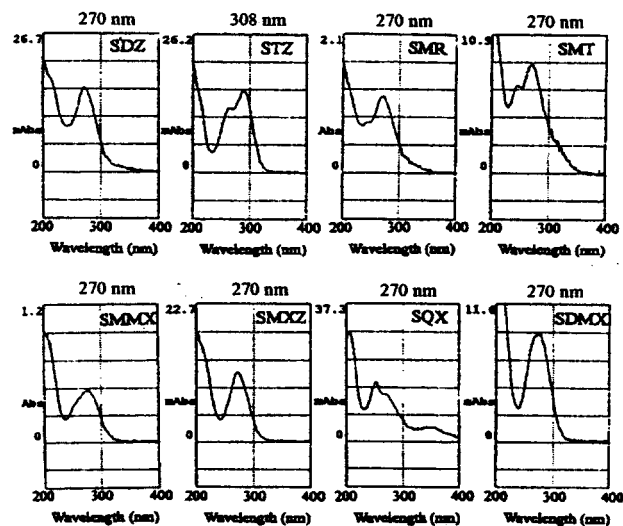
Fig. 1. Chemical structures of 13 veterinary drugs

Equipment

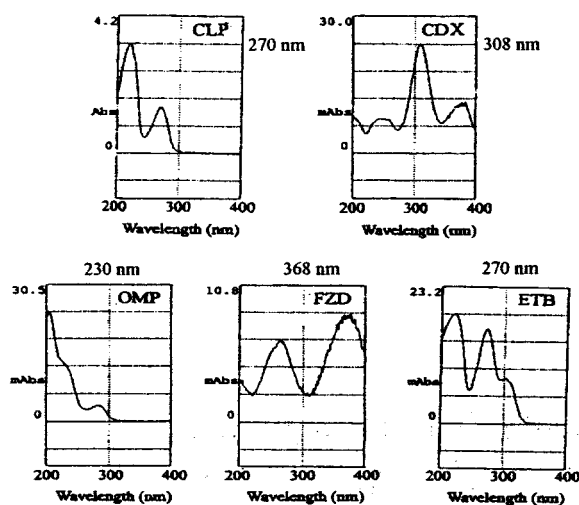
➤ HPLC-PAD
(photodiode array detector)

Results and Discussion

➤ Study on the HPLC Conditions
Wavelength of detection
Mobile phase



圖二、八種磺胺劑以光二極陣列陣檢測器偵測之紫外光吸收圖譜
Fig. 2. UV-absorption spectra of 8 sulfadiazine by photodiode array detector.



圖三、五種動物用藥以光二極體檢測器偵測之紫外光吸收圖譜
 Fig. 3. UV-absorption spectra of 5 veterinary drugs by photodiode array detector.

表一、各種動物用藥之高效液相層析最適偵測波長
 Table 1. Optimum detection wavelength of each veterinary drug analyzed by high performance liquid chromatography

Drug	λ_{max} (nm)
CLP*	270
SDZ	270
STZ	308
CDX	308
SMR	270
OMP	230
SMT	270
FZD	368
SMMX	270
SMXZ	270
ETB	270
SQX	270
SDMX	270

*CLP: clopidol; SDZ: sulfadiazine; STZ: sulfathiazole; CDX: carbadox; SMR: sulfamerazine;
 OMP: ormethoprim; SMT: sulfamethazine; FZD: furazolidone; SMMX: sulfamonomethoxine;
 SMXZ: sulfamethoxazole; ETB: etbo

Mobile Phase Selection

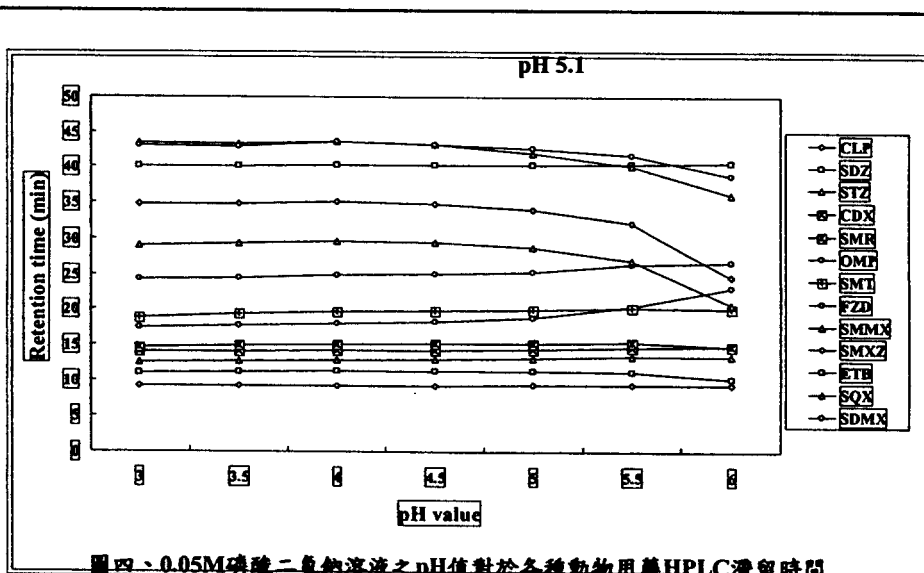
Horie et al., 1990 ; Ishii et al., 1994

— acetonitrile & 0.05M disodium hydrogen phosphate

● [acetonitrile] > 20% → CLP peak

[acetonitrile] > 40% → OMP peak
split into 2 peaks

● pH value in 0.05M disodium hydrogen phosphate solution — resolution



圖四、0.05M磷酸二氫鈉溶液之pH值對於各種動物用藥HPLC滯留時間之影響

Fig. 4. Effect of pH value in 0.05M sodium dihydrogen phosphate solution on the retention time of HPLC for each veterinary drug

HPLC condition :

1. Column : Luna 5 μ C18 (2) , (25 cm \times 4.6 mm i.d.)

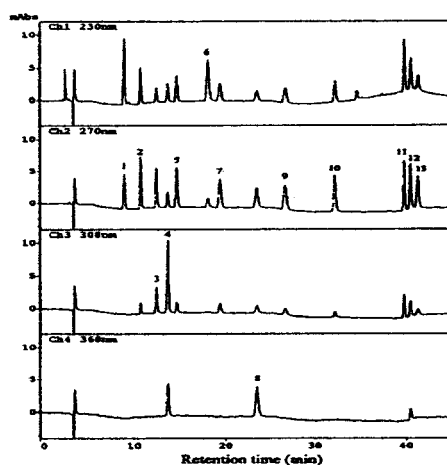
2. Mobile phase : (A) CH₃CN , (B) 0.05M NaH₂PO₄ (pH 5.1)

Time (min)	A (%)	B (%)
0	10	90
5	15	85
20	15	85
35	30	70
45	10	90

3. Flow rate : 1 mL/min

4. Detection wavelength : 200~400 nm

5. Injection volume : 20 μ L



圖五、十三種動物用藥標準溶液以光二極管陣列檢測器偵測之層析圖

Fig. 5. HPLC chromatograms of 13 veterinary drugs by photodiode array detector. HPLC conditions were described on text. Peaks: 1, clopidol; 2, sulfadiazine; 3, sulfathiazole; 4, carbadox; 5, sulfamerazine; 6, ormethoprim; 7, sulfamethazine; 8, furazolidone; 9, sulfamonomethoxine; 10, sulfamethoxazole; 11, ethopabate; 12, sulfaquinoloxaline; 13, sulfadimethoxine

Sample Preparation

Solvent Extraction :

Methanol、Methanol/metaphosphoric acid、
acetonitrile/metaphosphoric acid solution、
Acetonitrile

Cleanup :

C18 cartridge

表二、三種C18過濾層析匣對於各種動物用藥回收率之比較

Table 2. Comparison of three kinds of C18 cartridges on the recovery of each veterinary drug

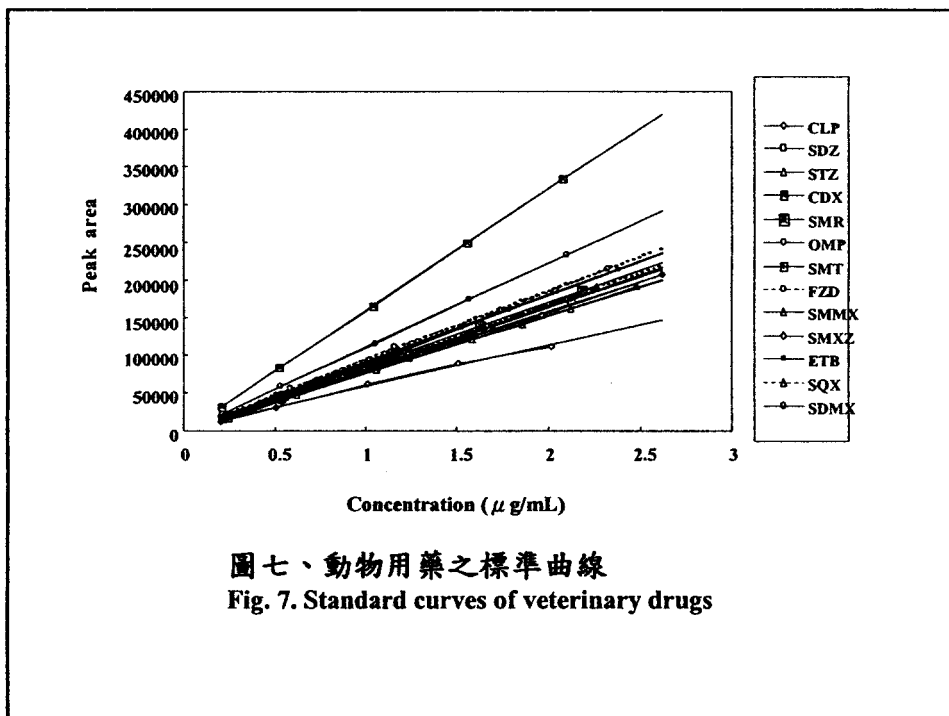
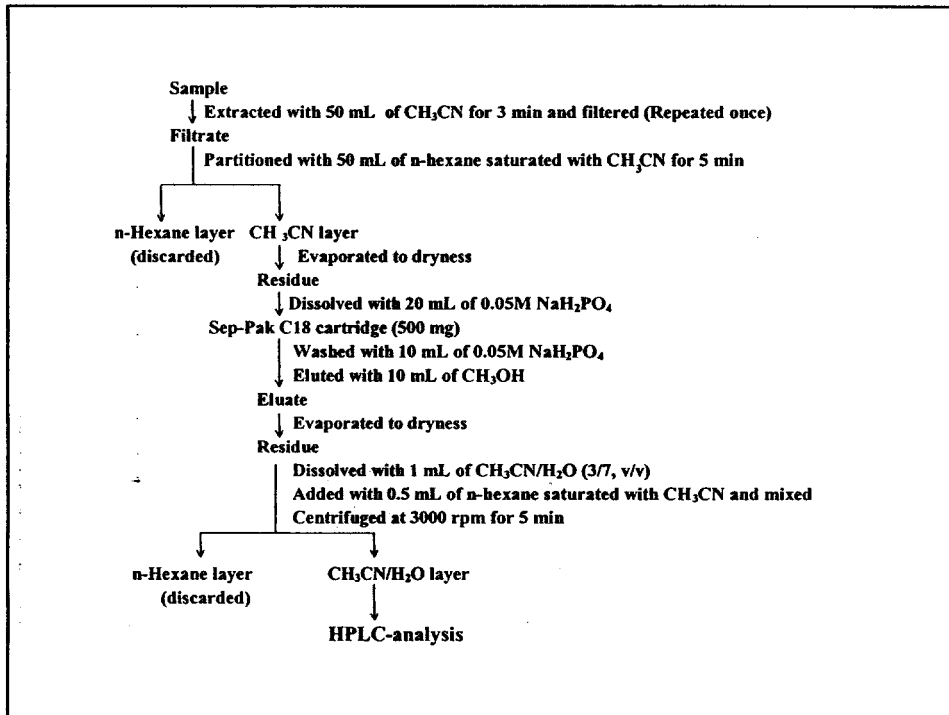
Drug	Recovery (%) [*]		
	Sep-Pak C18 (360mg)	Sep-Pak C18 (500mg) ^{**}	Adsorbex RP-18 (400mg)
CLP	54.2± 0.69 ^{h***}	87.7± 3.55 ^a	N.D. ^{****}
SDZ	45.2± 1.97 ^b	76.2± 3.96 ^a	N.D. ^c
STZ	71.0± 4.76 ^b	84.5± 6.23 ^a	N.D. ^c
CDX	88.9± 4.17 ^c	83.4± 2.71 ^a	12.6± 3.72 ^c
SMR	79.5± 6.04 ^a	82.8± 6.50 ^a	2.2± 3.15 ^c
OMP	89.8± 4.51 ^c	96.5± 0.58 ^a	14.1± 6.63 ^c
SMT	87.2± 5.80 ^a	84.6± 4.70 ^a	N.D. ^c
FZD	87.4± 4.51 ^c	94.5± 3.34 ^a	N.D. ^c
SMMX	89.8± 4.13 ^c	88.0± 4.25 ^a	N.D. ^c
SMXZ	85.1± 7.68 ^a	84.6± 3.68 ^a	N.D. ^c
ETB	92.9± 5.87 ^c	97.0± 1.85 ^a	61.6± 14.80 ^b
SQX	70.6± 6.86 ^{ab}	76.0± 1.92 ^a	46.6± 12.52 ^{bc}
SDMX	79.4± 8.26 ^b	82.3± 0.71 ^a	35.4± 13.44 ^c

^{*} Mean± S.D. (n=2), Chicken muscle was spiked with 0.2 ppm of each drug.

^{**} Sorbent weight.

^{***} Means within a row followed by the same letter do not differ at the 5 % level by Duncan multiple range test.

^{****} Not detected.



圖七、動物用藥之標準曲線
 Fig. 7. Standard curves of veterinary drugs

表三、各種動物用藥以高效液相層析法分析之線性關係
 Table 3. Linear relationship of peak area versus concentration of each veterinary drug by high performance liquid chromatography

Drug	Slope	Intercept	r ²
CLP	68737	-1435.4	0.9999
SDZ	88531	-883.11	0.9998
STZ	46851	-1286.5	0.9999
CDX	158884	-5164.8	0.9998
SMR	85142	-2442.4	1.0000
OMP	121622	-1874.7	0.9999
SMT	84525	-4988.7	0.9998
FZD	83113	-7364.9	0.9948
SMMX	75568	-5115.9	0.9996
SMXZ	75757	-1645.3	0.9998
ETB	83763	-1125.5	0.9999
SQX	85551	-2153.7	0.9996
SDMX	80760	-4080.7	0.9999

Recovery Study

表四、雞肉中添加13種動物用藥之回收率
Table 4. Recoveries of 13 veterinary drugs spiked into chicken muscle

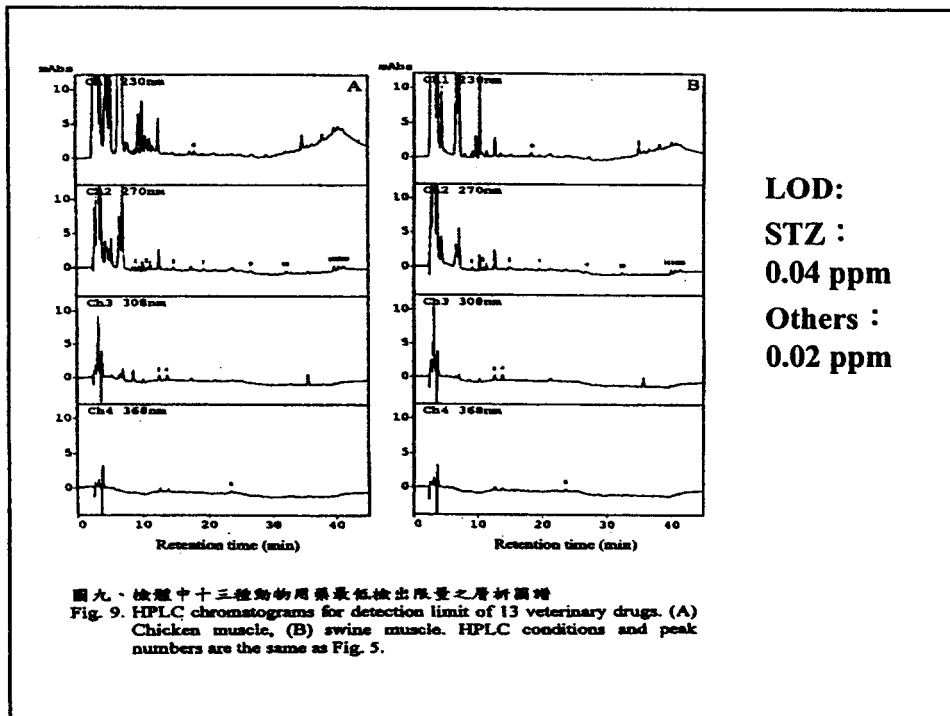
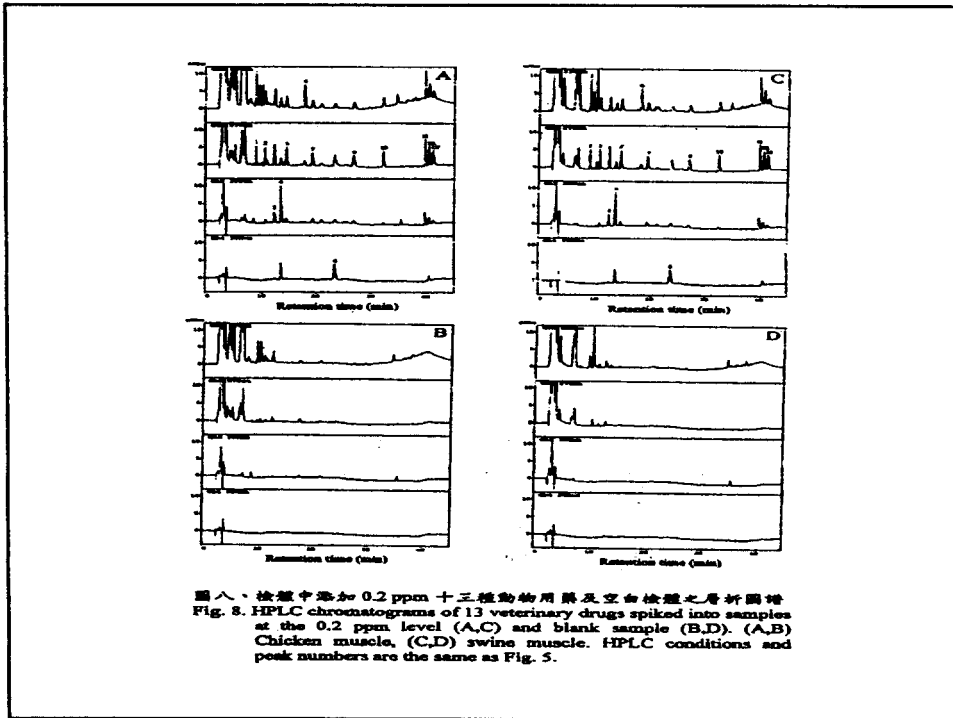
Drug	Recovery (%) ^a		
	0.1 ppm ^b	0.2 ppm	0.4 ppm
CLP	85.9 (3.98) ^c	87.1 (4.67)	87.2 (2.62)
SDZ	71.9 (4.55)	75.1 (3.07)	74.2 (0.85)
STZ	86.5 (5.90)	84.4 (7.05)	84.3 (3.58)
CDX	77.2 (3.02)	82.4 (2.69)	87.0 (2.71)
SMR	90.7 (7.63)	88.1 (5.55)	90.1 (3.39)
OMP	90.9 (6.28)	96.1 (5.02)	92.5 (4.85)
SMT	90.4 (6.48)	84.1 (6.80)	87.6 (4.27)
FZD	87.8 (3.13)	88.4 (4.48)	90.6 (2.64)
SMMX	77.8 (7.59)	81.3 (1.99)	85.7 (1.12)
SMXZ	85.4 (3.59)	84.3 (4.03)	85.7 (2.00)
ETB	96.9 (4.90)	94.6 (3.51)	93.5 (2.03)
SQX	76.9 (6.62)	75.1 (4.51)	78.6 (1.97)
SDMX	82.7 (4.53)	81.2 (1.19)	82.1 (4.02)

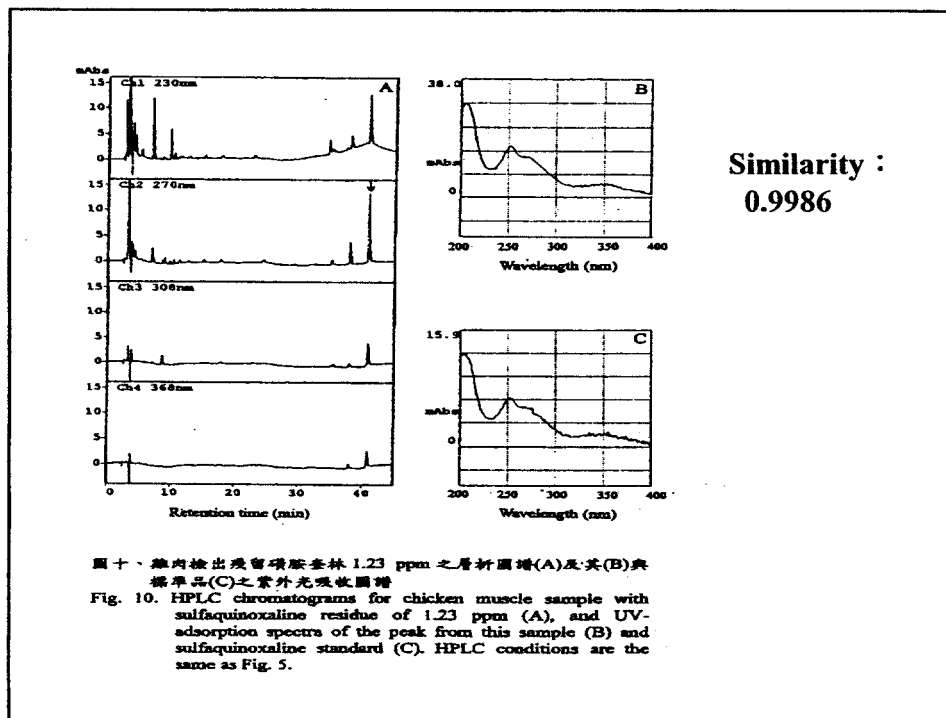
a Average of triplicate
b Spike level.
c Number in parentheses represents coefficient of variation (%).

表五、豬肉中添加13種動物用藥之回收率
Table 5. Recoveries of 13 veterinary drugs spiked into swine muscle

Drugs	Recovery (%) ^a		
	0.1 ppm ^b	0.2 ppm	0.4 ppm
CLP	84.2 (5.36) ^c	86.9 (3.07)	85.4 (3.25)
SDZ	71.1 (5.89)	73.6 (1.16)	72.3 (4.18)
STZ	88.4 (4.15)	84.0 (2.42)	86.2 (3.17)
CDX	75.6 (5.91)	81.5 (3.11)	86.5 (2.74)
SMR	95.6 (0.39)	88.9 (2.18)	93.1 (2.38)
OMP	96.7 (2.16)	96.4 (0.92)	94.0 (1.36)
SMT	82.2 (6.05)	80.3 (2.22)	88.5 (2.27)
FZD	99.6 (5.30)	91.0 (4.94)	93.3 (1.31)
SMMX	77.8 (3.71)	83.6 (1.20)	90.5 (2.16)
SMXZ	82.4 (3.47)	84.4 (2.61)	88.5 (1.68)
ETB	91.4 (2.06)	95.2 (4.60)	96.6 (1.08)
SQX	71.7 (7.79)	73.1 (3.18)	79.5 (6.30)
SDMX	78.4 (4.67)	80.3 (4.93)	84.5 (4.83)

a Average of triplicate.
b Spike level.
c Number in parentheses represents coefficient of variation (%).





Conclusions

- This method is easy to operate and capable of removing most interference after cleanup with a Sep-Pak C18 cartridge
- The average recoveries for most test drug were higher than 80% except for SDZ and SQX
- PDA detector can be used to further confirm the compounds of interest by comparing the spectra of analyte with those of standards

Simultaneous Determination of Qunolones in Livestock and Marine Products by High Performance Liquid Chromatography

Ref: J. Food Drug Anal. 11(2): 114-127. (2003)



Bureau of Food and Drug Analysis,
Department of Health, Executive Yuan,
Taiwan, R.O.C.

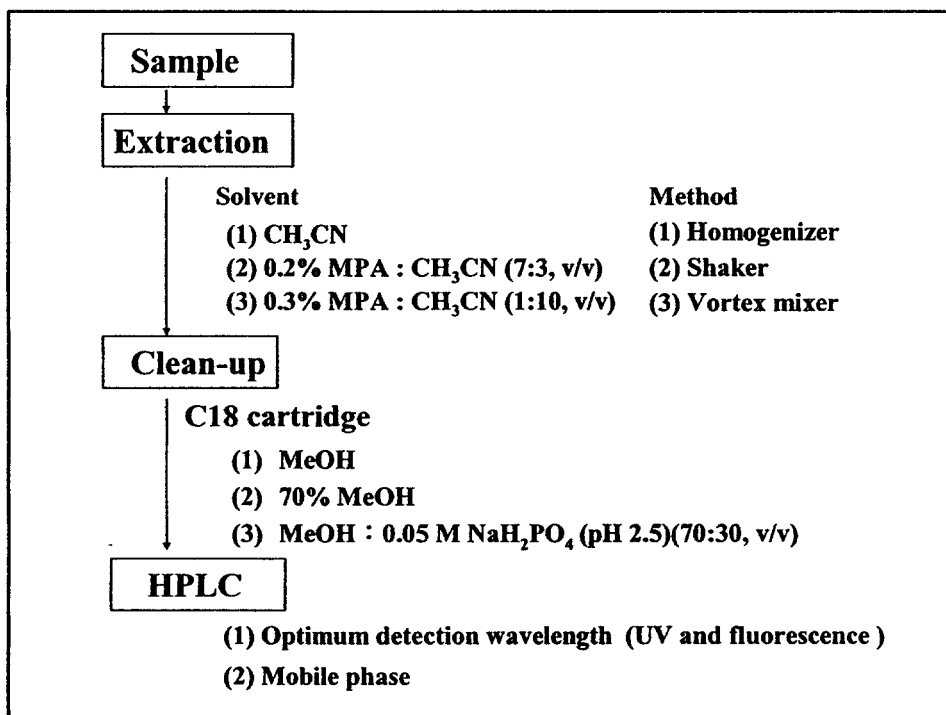
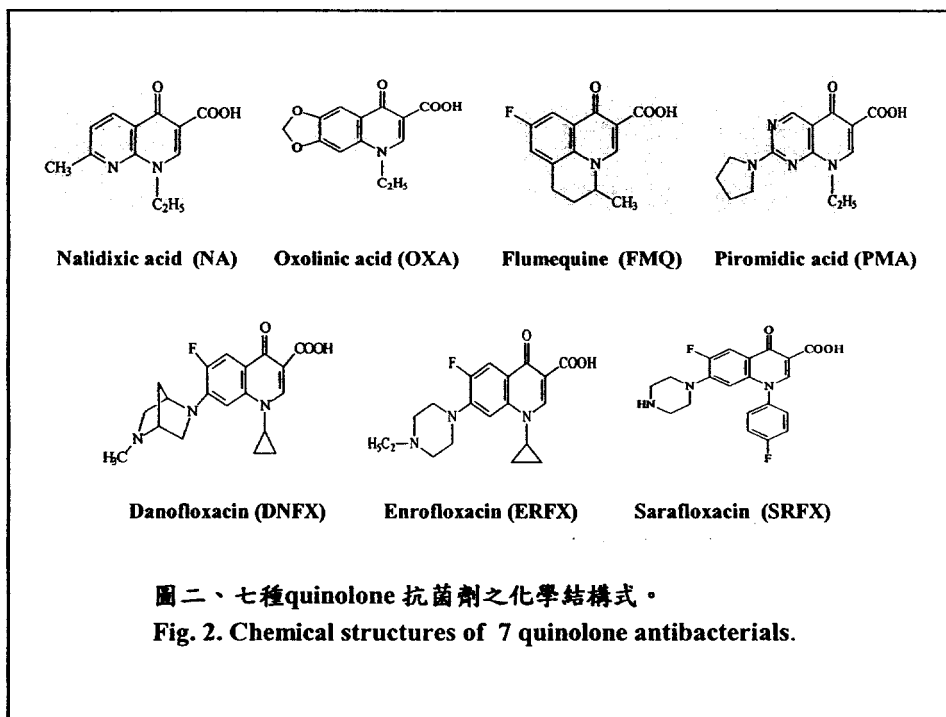


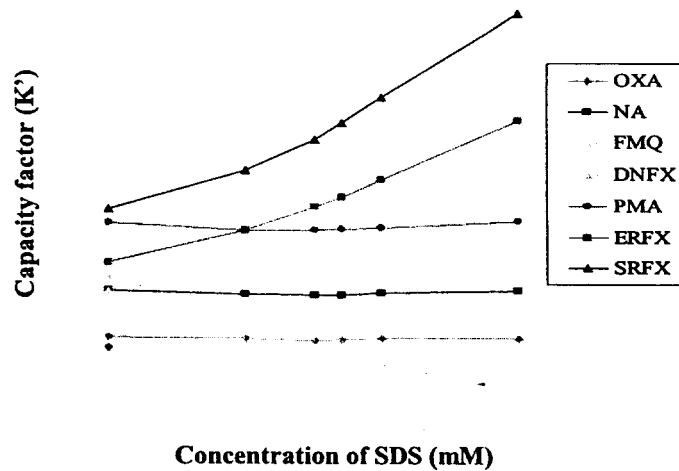
Fig. 1. General structure of quinolone antibacterials.

R1: cyclopropyl, ethyl, methylamino, fluorophenyl group and thiazine or oxazine ring.

R6: fluorine atom.

R7: piperazin-1-yl, 4-methylpiperazin-1-yl, 3-methylpiperazin-1-yl.





圖三、SDS濃度對七種quinolone抗菌劑滯留時間之影響。

Fig. 3. Effect of the concentration of SDS on the retention time of 7 quinolones.

HPLC conditions : Cosmosil-AR-II 5C₁₈; mobile phase, 0.05 M phosphate buffer (pH 2.5) : acetonitrile (65 : 35) containing 2-5 mM SDS; flow rate, 1.0 mL/min.

Table 1. Optimum detection wavelength of 7 quinolone antibacterials using UV and fluorescence detection

Quinolone	Peak number	UV(nm)	Fluorescence(nm)	
			Excitation	Emission
Oxolinic acid (OXA)	1	267	327	367
Nalidixic acid (NA)	2	258	327	367
Flumequine (FMQ)	3	241	327	367
Danofloxacin (DNFX)	4	287	295	446
Piromidic acid (PMA)	5	286	*	*
Enrofloxacin (ERFX)	6	284	295	446
Sarafloxacin (SRFX)	7	287	278	442

* Piromidic acid has too low fluorescence quantum yield to be detected.

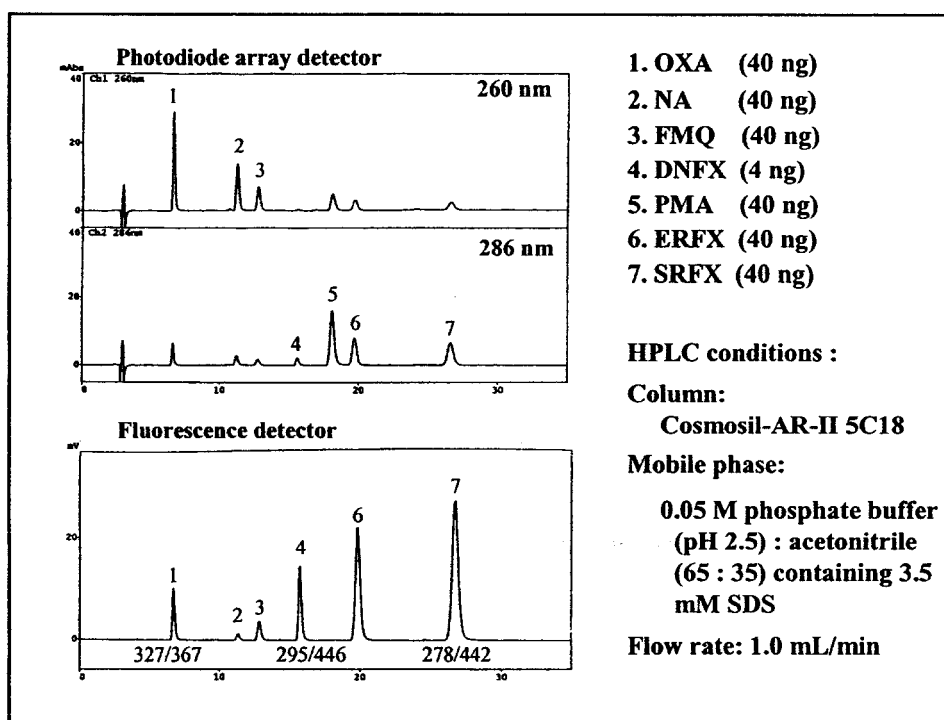


Table 2. Calibration curves of quinolone standards (FL)

Quinolone	Detection	Linear equation	Correlation coefficient
OXA	Ex 327/Em 367 nm	Y= 67044X - 54	0.9994
NA	Ex 327/Em 367 nm	Y= 10854X - 1014	1.0000
FMQ	Ex 327/Em 367 nm	Y= 40984X - 4766	0.9996
DNFX	Ex 295/Em 446 nm	Y= 1193454X -12233	1.0000
ERFX	Ex 295/Em 446 nm	Y= 266437X - 13016	0.9999
SRFX	Ex 278/Em 442 nm	Y= 397192X - 18657	0.9999

(DNFX 0.005-2.0 µg/mL, 其餘皆為 0.05-10.0 µg/mL)

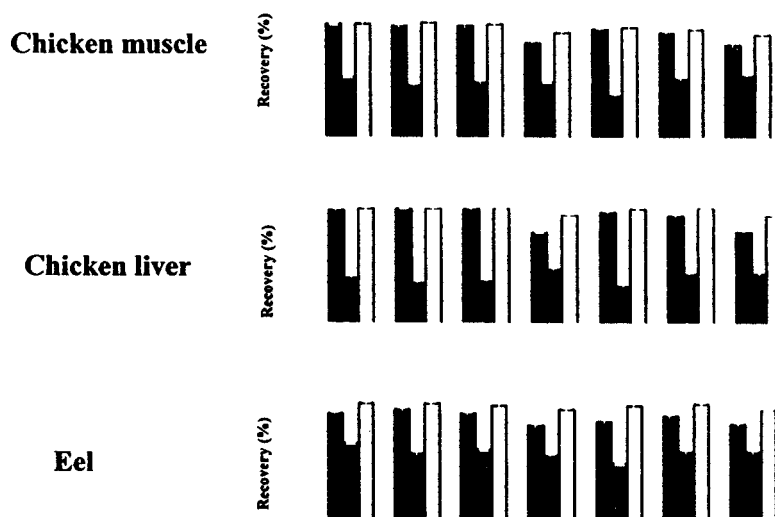
Table 3 · Calibration curves of quinolone standards (PDA)

Quinolone	Detection	Linear equation	Correlation coefficient
OXA	260 nm	$Y = 189580X + 4687$	0.9995
NA	260 nm	$Y = 133440X - 6318$	0.9999
FMQ	260 nm	$Y = 86446X - 1665$	0.9999
DNFX	286 nm	$Y = 177675X - 1378$	1.0000
PMA	286 nm	$Y = 225886X - 30396$	0.9996
ERFX	286 nm	$Y = 114164X - 7362$	1.0000
SRFX	286 nm	$Y = 109053X - 8211$	1.0000

(DNFX 0.01-2.0 µg/mL, 其餘皆為 0.1-10.0 µg/mL)

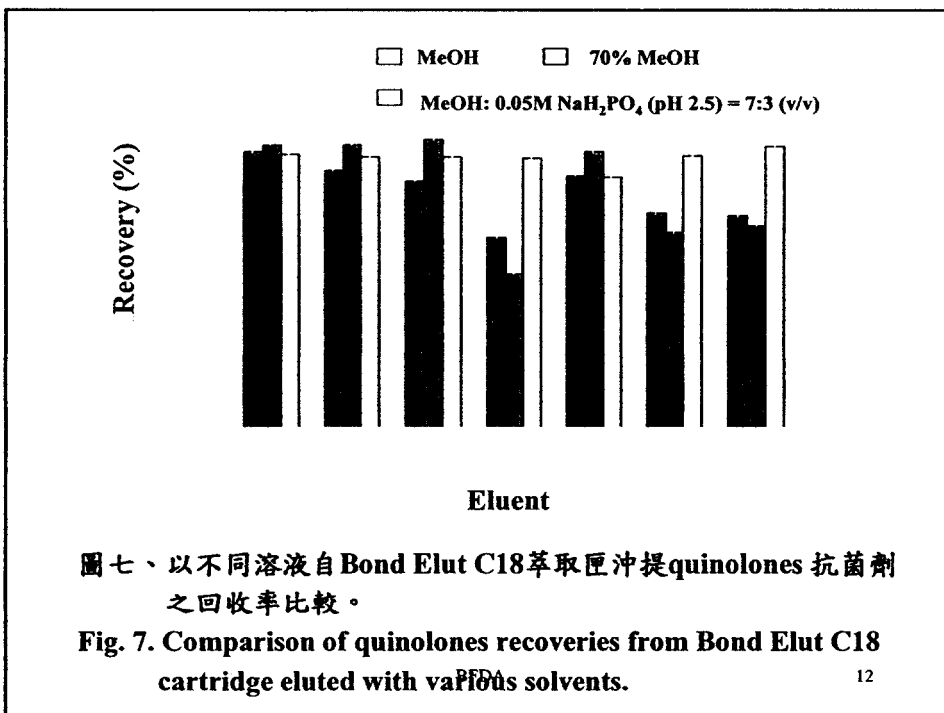
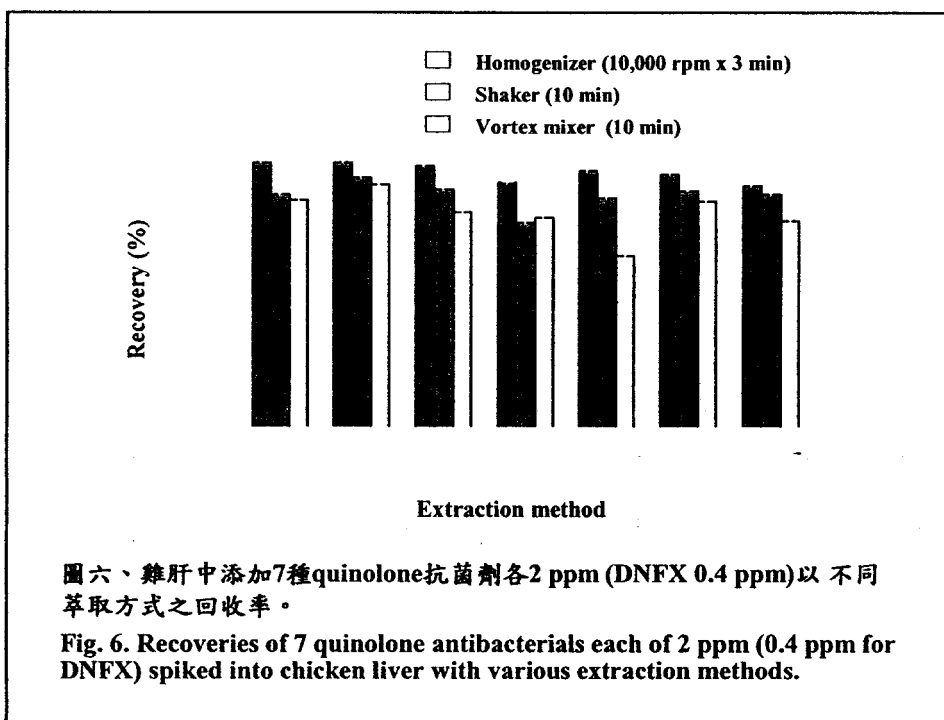
Extraction solvents

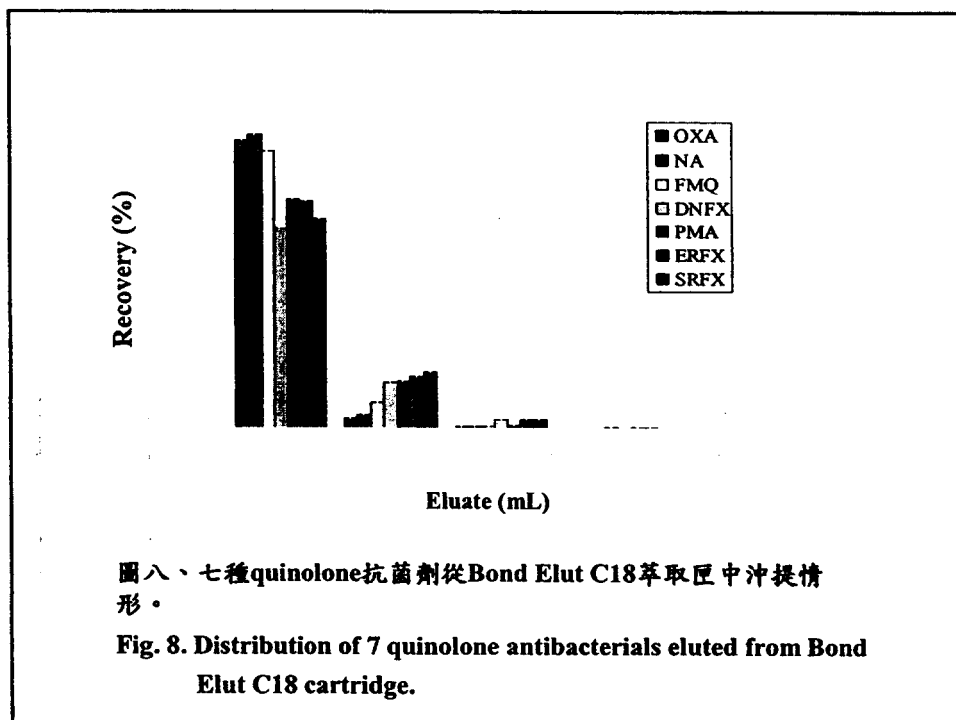
- CH₃CN
- 0.2% MPA: CH₃CN (7:3, v/v)
- 0.3% MPA: CH₃CN (1:10, v/v)



BFDA

10



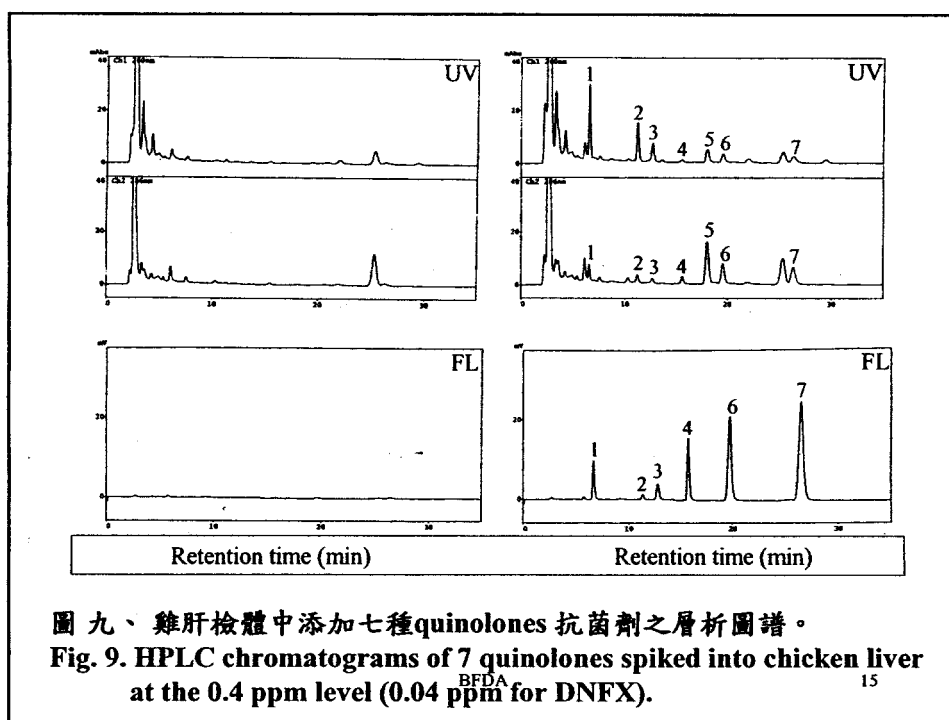


表四、雞肉、雞肝、豬肉、豬肝、鰻魚及香魚中添加七種quinolones之回收率

Sample	Recovery (%)		CV, %
	0.01 ppm ^a	0.1-2.0 ppm	
Chicken muscle	81.3-84.5	81.2-98.6	0.3-5.4
Chicken liver	75.2-82.9	80.7-96.6	0.4-5.8
Swine muscle	79.9-85.5	80.4-98.5	0.3-4.7
Swine liver	76.9-82.2	80.1-97.2	0.8-5.4
Eel	75.4-82.3	82.0-96.7	0.3-4.2
Sweet fish	74.3-83.3	82.5-99.9	0.3-4.8

^a LODs of NA、FMQ及PMA < 0.01 ppm ^o
BFDA

14



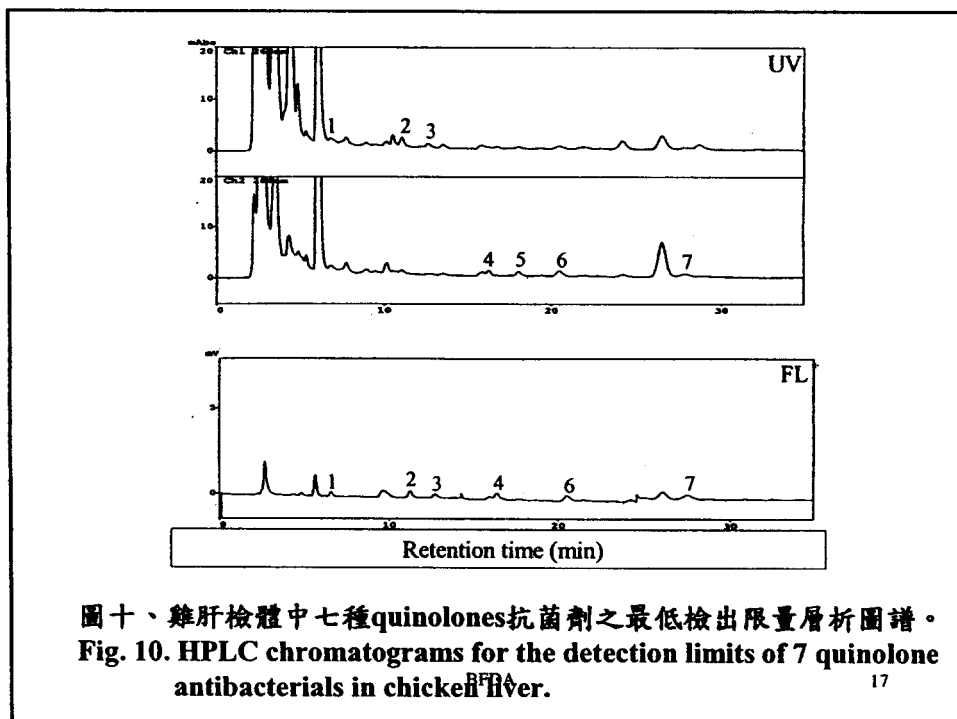
表五、以紫外光及螢光偵測七種quinolones之檢驗方法最低檢出限量

Quinolone	UV		Programmable fluorescence		UV/FL ratio
	Wavelength (nm)	Detection limit (ppm)	Ex/Em (nm)	Detection limit (ppm)	
OXA	260	0.01	327/367	0.01	1
NA	260	0.02	327/367	0.05	0.4
FMQ	260	0.04	327/367	0.02	2
DNFX	286	0.02	295/446	0.0006	33
PMA	286	0.02	295/446	N.D. ^a	—
ERFX	286	0.02	295/446	0.002	10
SRFX	286	0.02	278/442	0.002	10

^aNot detected.

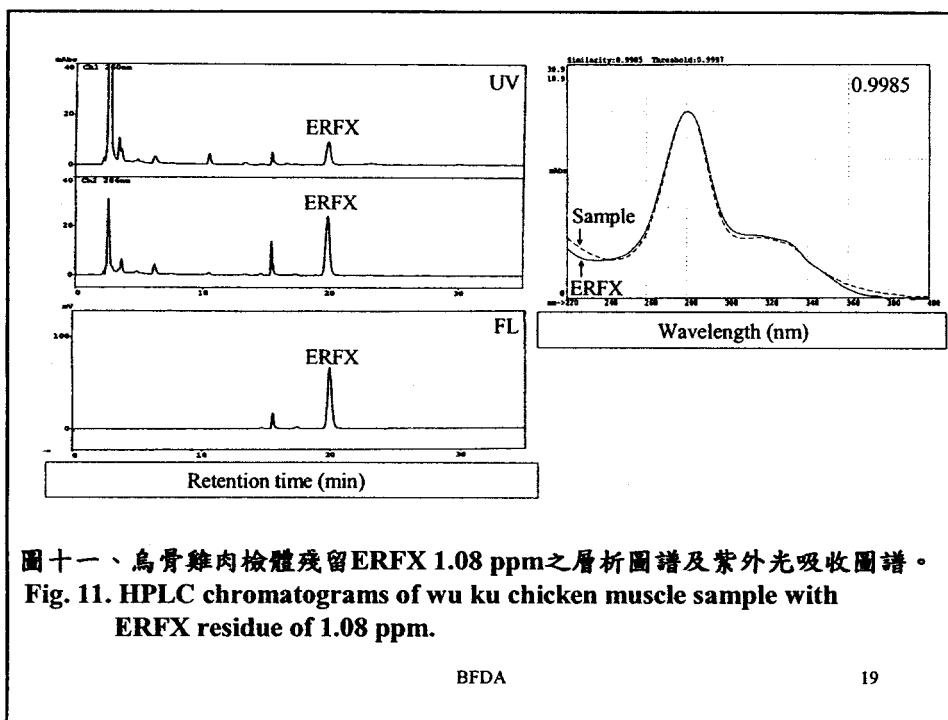
BFDA

16



表六、七種quinolones之同日內及異日間之重複性分析

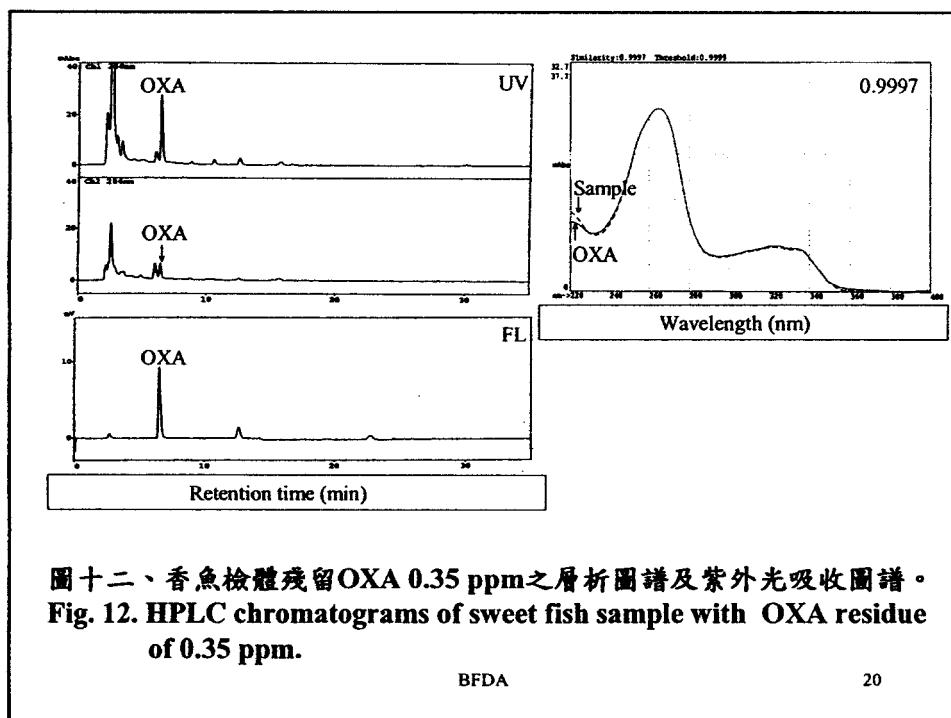
Quinolone	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day (CV, %)(n=3)	Inter-day (CV, %)(n=9)
OXA	0.5	2.04	3.25
	2.0	0.43	1.85
	10.0	0.42	0.50
NA	0.5	2.43	1.83
	2.0	0.66	1.37
	10.0	1.48	0.19
FMQ	0.5	3.29	5.23
	2.0	1.77	2.43
	10.0	1.81	4.54
DNFX	0.05	2.07	2.43
	0.2	0.35	0.66
	2.0	0.23	1.48
PMA	0.5	1.02	1.13
	2.0	0.40	0.95
	10.0	0.10	0.28
ERFX	0.5	0.93	1.10
	2.0	0.12	0.28
	10.0	0.36	1.62
SRFX	0.5	1.06	3.20
	2.0	BFDA 0.25	0.62
	10.0	0.17	0.33



圖十一、烏骨雞肉檢體殘留ERFX 1.08 ppm之層析圖譜及紫外光吸收圖譜。
 Fig. 11. HPLC chromatograms of wu ku chicken muscle sample with ERFX residue of 1.08 ppm.

BFDA

19



圖十二、香魚檢體殘留OXA 0.35 ppm之層析圖譜及紫外光吸收圖譜。
 Fig. 12. HPLC chromatograms of sweet fish sample with OXA residue of 0.35 ppm.

BFDA

20

表八、烏骨雞檢體組織中ERFX之分布情形

Table 8. Tissue levels of ERFX in wu ku chicken muscle samples

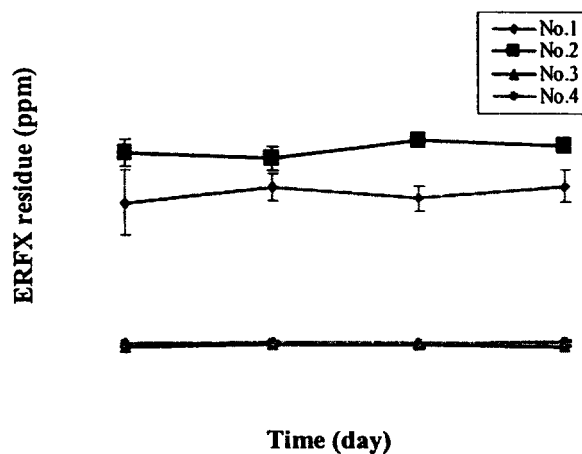
No. of sample	Concentration ^a (ppm)		
	Muscle	Skin	Liver
1	1.16 (4.8) ^b	2.37 (1.3)	0.27 (0.8)
2	1.54 (3.9)	2.87 (4.3)	0.18 (3.7)
3	0.10 (4.9)	0.25 (2.5)	0.01 (2.1)
4	0.08 (3.9)	0.21 (4.3)	0.01 (3.9)

^aAverage of triplicate.

^bValue in parenthesis is the coefficient of variation(CV,%).

BFDA

21



圖十三、烏骨雞肉檢體中殘留ERFX冷藏(4°C)保存之安定性。
Fig. 13. Stability of residual ERFX in wu ku chicken muscle samples during storage at 4°C.

BFDA

22

Conclusions

1. A HPLC method for simultaneous determination of 7 quinolones was developed.

- **HPLC-photodiode array and HPLC-fluorescence**
- **Recovery Study**
- **Limit of Detection (LOD)**

(UV 0.01-0.04 ppm, FL 0.0006- 0.05 ppm)

2. The enrofloxacin residue in wu ku chicken was very stable.

Thanks for your attention!



Determination of polychlorinated biphenyls congeners by Gas Chromatography ion trap tandem mass

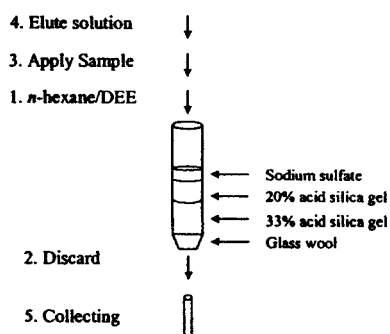


Bureau of Food and Drug
Department of Health
Taiwan

1

Extraction and Clean up

- Meat 30 g → homogenization
→ dry at 100 °C → lipid
extraction → Clean up →
concentration → GC/MS/MS
- Eggs 50 g → sodium sulfate
50 g → sea seed 10 g →
dry at 100°C → lipid
extraction → Clean up →
concentration → GC/MS/MS



2

Gas Chromatography

- Column: HP-5MS, 0.25 mm × 30m, 0.25 μm
- Temp. program: 95°C, 1 min, 4°C/min, 130°C, 15°C/min, 170°C, 250°C, 2°C min, 2 min.
- Injector temp. : 250°C
- Injection volume: 1 μL
- Mobile phase: N₂, 1 mL/min
- Split ratio: 20/80

3

Ion Trap Mass/Mass

- Waveform type : Resonant
- CID (collision induced dissociation) = 1.75~3.0 volts
- Mass isolation window = 1 or 2 m/z
- Ion time = 25 ms.
- Emission current : 50 μamps
- Target TIC = 5000
- Scan rate = 0.16 sec/scan
- Multiplier offset = +250 V
- LMCO = low mass cut-off for CID
- M-2Cl for PCBs congeners analysis

4

PCB Congeners

- Σ 28 PCB = 77, 81, 126, 169 (Coplanar), 28, 37, 44, 49, 52, 66, 74, 95, 99, 101, 105, 110, 114, 118, 137, 138, 149, 153, 156, 157, 167, 170, 180, and 187.

- 檢體中所檢測到的 PCB congeners •
- 含量 > PCBs 5% 之 PCB congeners •
- 含量 > Σ 戴奧辛 5% 之 PCB congeners •
- 檢出頻率不高，但是含量 > Σ PCBs 2% •

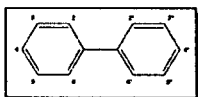
(Canady and Hayward, 2000)

- Σ 7 PCB = 28, 52, 101, 118, 138, 153, and 180 .

- 3Cl~7Cl

- 1/3 all PCBs in the contaminated feed in Belgian chicken incident

- PCB : PCDD/F = 50,000 : 1

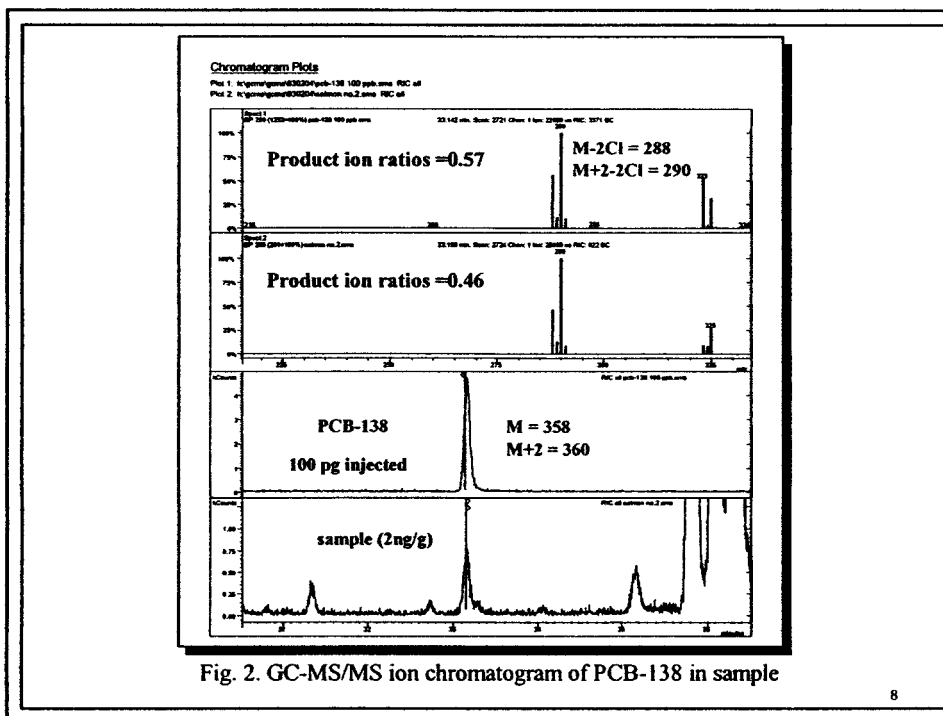
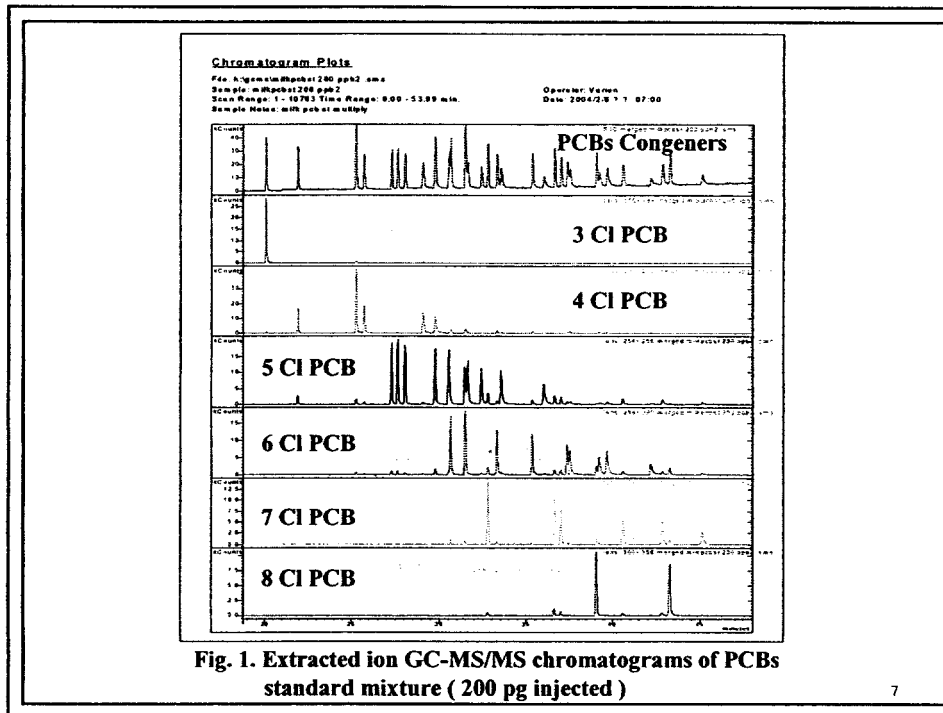


(Bernard *et al.*, 1999)

5

- Coplanar PCBs
77,81,105,114,118,123,126,156,157,167,169, 189
- Bordet *et al.*, 2002. (Interlaboratory Study)
28, 52, 101, 118, 153, 138, 180
- Mes *et al.*, 1991. (Canadian dairy products)
the most prominent PCBs = 99, 118, 138, 153
- Sewart, A., and Jones, K. C. 1996. (U.K. cow's milk)
- Jones, K. C. 1985. (>70% occurrence in environmental, biological and human tissue samples)
28,74,77,99,105,118,126,128,138,153,169,170,179,180

6



Survey on the organochlorine pesticide residues
in eggs and meats in Taiwan



Bureau of Food and Drug Analysis,
Department of Health, Executive Yuan,
Taiwan, R.O.C.



- 聯合國環境部於2001年全面禁用或嚴格限用十二種化學物(持久性有機污染物, POPs), 其中包括阿特靈(Aldrin)、可氣丹(Chlordane)、滴滴涕(DDT)、地特靈(Dieldrin)、安特靈(Endrin)、飛佈達(Heptachlor)、六氯苯(Hexachlorobenzene)、滅蟻樂(Mirex)、毒殺芬(Toxaphene)等九種有機氯農藥。
- 台灣自1971年已陸續禁用致腫瘤性和長效污染性之有機氯農藥禁用。
- 瞭解台灣地區蛋類及畜肉中有機氯劑之殘留量。



■FDA Total Diet Study (1) 3

食物名稱 農藥名稱	Ground beef, pan- cooked	Beef chuck roast, baked	Beef steak, loin, pan- coked	Pork chop, pan-cooked	Pork bacon, pan- cooked	Pork roast, baked	Lamb chop, pan- cooked
α -BHC	●						
Lindane	●			●		●	
Aldrin							
α -Chlordane				●			
β -Chlordane				●			
Heptachlor							
Hepta-epoxide	●	●	●	●		●	●
4,4'-DDE	●	●	●	●	●	●	●
4,4'-DDT	●		●	●	●		
Dieldrin	●	●	●	●	●		●
Endrin							
Toxaphene							

(US FDA, 2000)

■FDA Total Diet Study (2) 4

食物名稱 農藥名稱	Eggs, csrambled	Eggs, fried	Eggs, boiled
α -BHC			
Lindane			
Aldrin			
α -Chlordane			
β -Chlordane			
Heptachlor			
Hepta-epoxide			
4,4'-DDE	●	●	●
4,4'-DDT			
Dieldrin	●	●	●
Endrin			
Toxaphene			

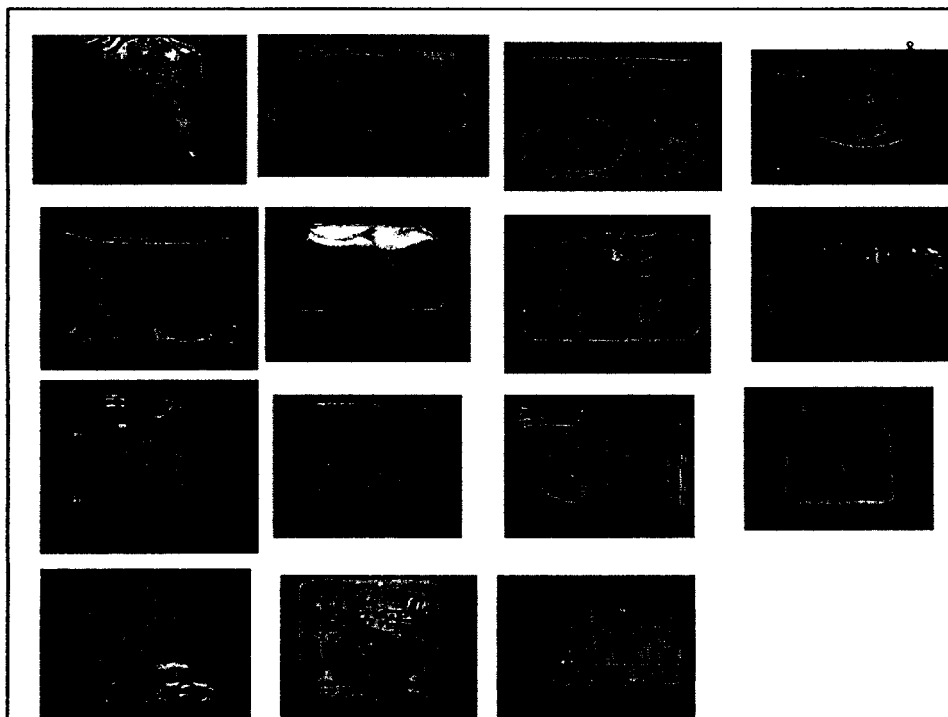
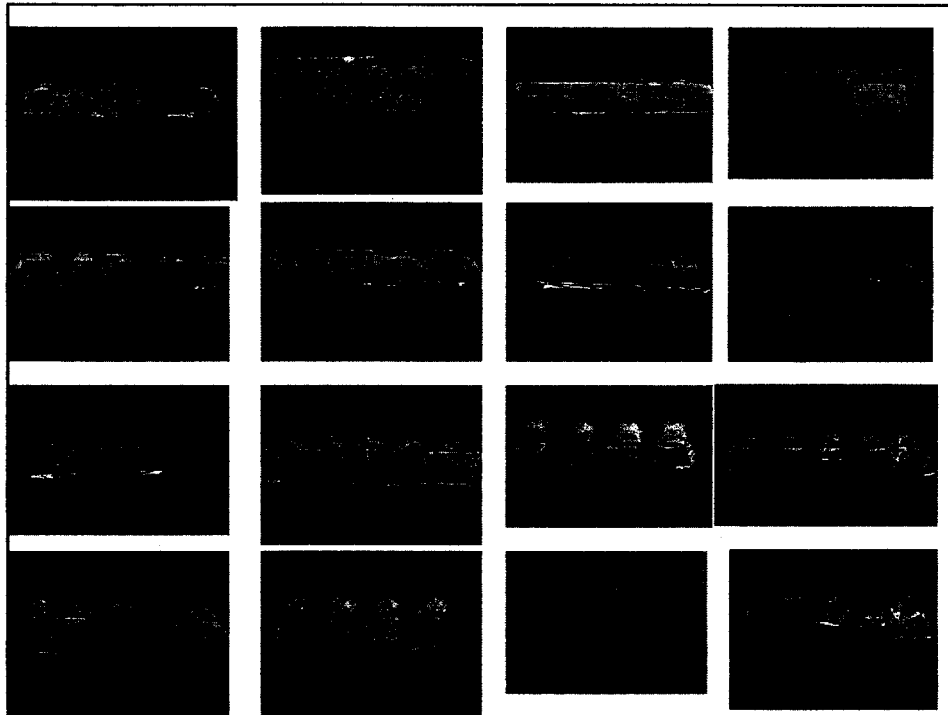
(US FDA, 2000)

▪The tolerances for persistent organochlorine pesticide residues in eggs and meats (Taiwan)

5

pesticide	Egg (ppm)	Meat (ppm, fat basis)
BHC	---	---
HCB	---	---
Lindane	0.1	Beef 2 Pork 2 Lamb 2
Aldrin & Dieldrin	0.1	0.2
Heptachlor	0.05	0.2
Chlordane	0.02	0.05
DDT	0.5	
Endrin	0.2	0.1
Toxaphene	---	---
Mirex	---	---





9

■15 organochlorine pesticides

英文名稱	中文名稱	英文名稱	中文名稱
α -BHC	蟲必死	4,4'-DDT	滴滴涕
β -BHC	蟲必死	4,4'-DDE	滴滴易
Lindane	靈丹	Dieldrin	地特靈
Aldrin	阿特靈	Endrin	安特靈
Heptachlor	飛佈達	Mirex	滅蟻樂
Hepta-epoxide	環氧飛佈達	Toxaphene	毒殺芬
α -Chlordane	可氣丹	Hexachlorobenzene	六氯苯
β -Chlordane	可氣丹		

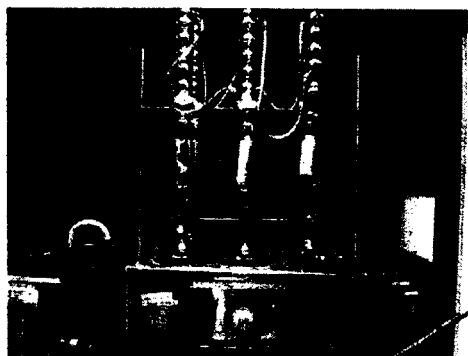
10

■畜肉檢液製備

○脂肪萃取-Soxhlet extraction

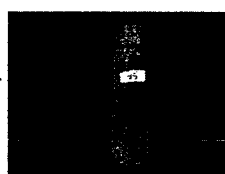
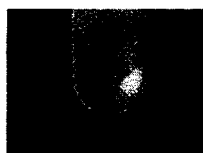
•樣品30g、80°C 烘乾2~3小時

•以乙醚萃取脂肪、60°C、6~8小時



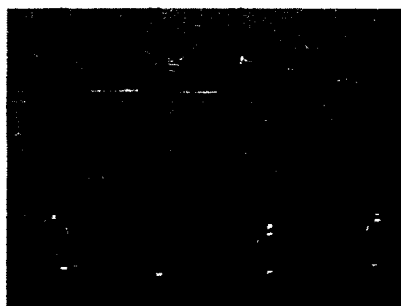
○有機氯劑萃取(cryogenic extraction)

- 檢體脂肪 0.5 g
- 冷凍離心分離萃取
- 乙腈：二氯甲烷(3:1, v/v)3 mL
- 15°C、300rpm 冷凍離心 20minX二次
- 定容至2 mL



○淨化(clean-up)

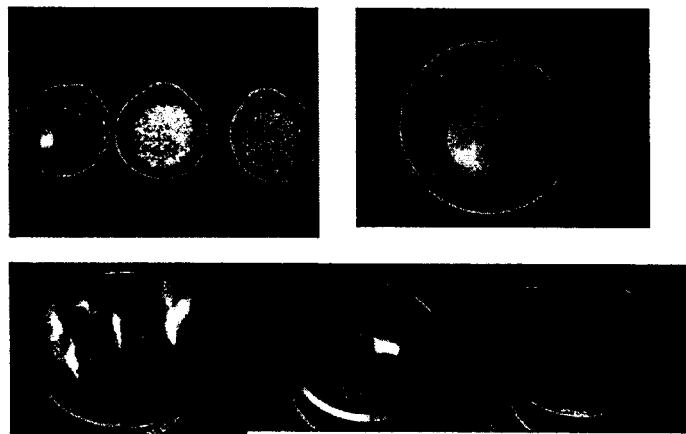
- C18固相萃取管 1 g/6 mL :
沖提液-乙腈 10 mL
- 矽酸鎂固相萃取管 1 g/6 mL :
沖提液1-石油醚：乙醚(4:1, v/v)10 mL
沖提液2-石油醚：乙醚(17:3, v/v)12 mL
- 正己烷定容至1 mL



■ 蛋類檢液製備

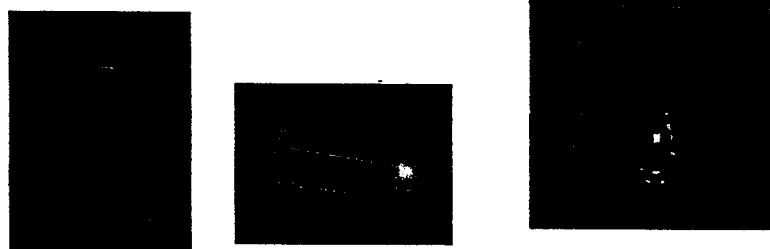
13

○ 蛋液與無水硫酸鈉混合(1:3)



- 混合品2g+ Bulk sorbent 0.5g +
沖提液-丙酮：正己烷(1:9,v/v)2mL
- 矽酸鎂固相萃取管(2 g/20 mL)
- 沖提液18 mL
- 正己烷定容至2mL

14



■分析儀器

15

GC/ECD

(Gas chromatograph equipped with electron capture detector)

Column : DB5

165 °C-1min、3.5 °C /min、250 °C-10 min

Injector : 250 °C Detector : 300 °C



■有機氯劑標準品滯留時間表

16

標準品 I	滯留時間	標準品 II	滯留時間	標準品 III
α -BHC	7.942	HCB	8.32	toxaphene
β -BHC	8.855	lindane	9.19	以特性波峰
heptachlor	12.18	aldrin	13.77	(characteristic peak)之滯
β -chlordan	16.60	hepta-epoxide	15.73	留時間及形
4,4'-DDE	18.34	α -chlordan	17.37	狀作為鑑定的“指紋”
4,4'-DDT	22.12	dieldrin	18.44	
mirex	26.90	endrin	19.46	

氣相層析儀條件:

氣相層析儀: Varian 3600, USA

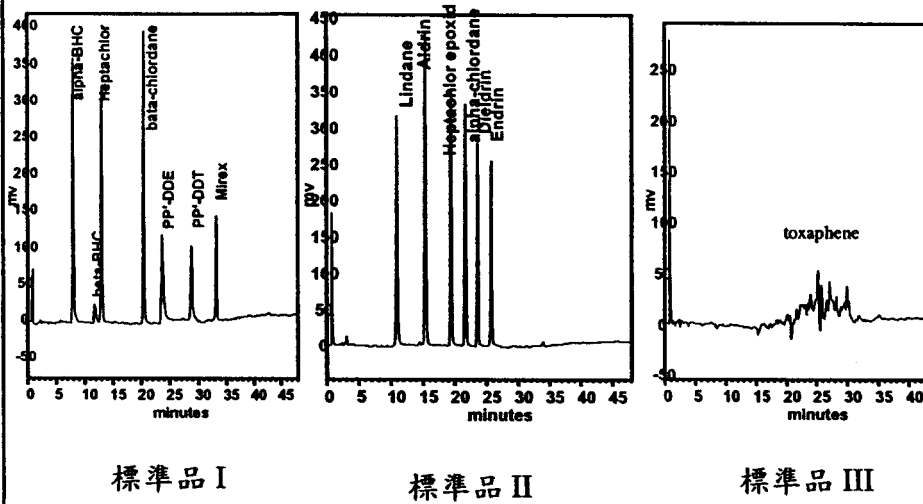
測檢器: ECD (electron capture detector, 電子捕獲檢出器)

層析管柱: DB5 (內徑0.53 mm x 30 m, 內膜厚度1.5 μ m)

管柱溫度: 初溫165 °C, 維持1min, 溫度上升度率3.5 °C /min, 終溫250 °C, 維持10 min

注入器溫度: 250 °C 檢出器溫度: 300 °C 移動相氣體: 氮氣, 流速 10 ml/min

GC chromatograms of 15 organochlorine pesticide standard.

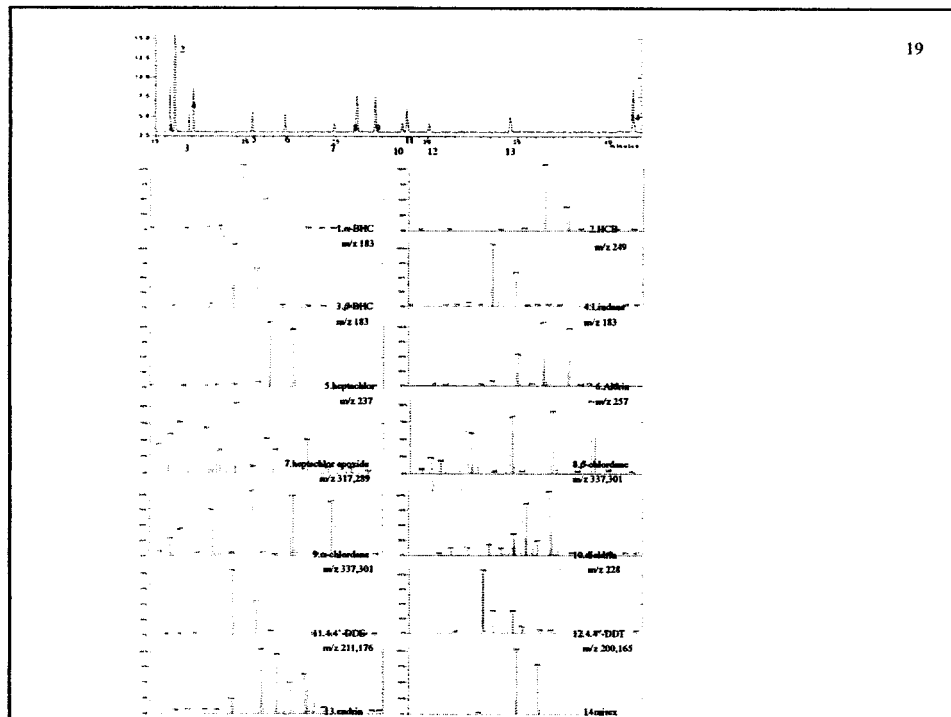


標準品 I

標準品 II

標準品 III

GC/MS/MS
(gas chromatography-tandem mass spectrometry)



■ Survey on 15 organochlorine pesticide residues in eggs in Taiwan 20

農藥名稱	最低檢出限量 (ppm)	Hen eggs (24件)		Duck egg (16件)	
		檢出範圍 (ppm)	檢出件數	檢出範圍 (ppm)	檢出件數
α-BHC	0.006	ND	0	ND	0
β-BHC	0.08	ND	0	ND	0
Lindane	0.006	ND	0	ND	0
HCB	0.01	ND	0	ND	0
α-Chlordane	0.01	ND	0	ND	0
β-Chlordane	0.006	ND	0	ND	0
4,4'-DDE	0.01	ND	0	ND	0
4,4'-DDT	0.006	ND	0	ND	0
Aldrin	0.006	ND	0	ND	0
Dieldrin	0.04	ND	0	ND	0
Endrin	0.04	ND	0	ND	0
Heptachlor	0.006	ND	0	ND	0
Hepta-epoxide	0.01	ND	0	ND	0

Survey on 15 organochlorine pesticide residues in meats in Taiwan (fat basis)							
農藥名稱	最低檢出限量 (ppm)	Pork (27件)		Beef (15件)		Lamb (18件)	
		檢出範圍 (ppm)	檢出件數	檢出範圍 (ppm)	檢出件數	檢出範圍 (ppm)	檢出件數
α -BHC	0.006	ND	0	ND	0	ND	0
β -BHC	0.02	ND	0	ND	0	ND	0
Lindane	0.02	ND	0	ND	0	ND	0
HCB	0.02	ND	0	ND	0	ND	0
α -Chlordane	0.02	ND	0	ND	0	ND	0
β -Chlordane	0.006	ND	0	ND	0	ND	0
4,4'-DDE	0.006	ND	0	0.256~0.516	3	0.018~0.287	6
4,4'-DDT	0.006	ND	0	ND	0	ND	0
Aldrin	0.02	ND	0	ND	0	ND	0
Dieldrin	0.006	ND	0	ND	0	ND	0
Endrin	0.04	ND	0	ND	0	ND	0
Heptachlor	0.01	ND	0	ND	0	ND	0
Henta-epoxide	0.006	ND	0	ND	0	ND	0



Regulation and Residue Monitoring Program of Veterinary Drugs and Pesticides for Animal Products in Taiwan

**Bureau of Food and Drug Analysis,
Department of Health, Executive Yuan,
Taiwan, R.O.C.**

Legal framework

Food Sanitary Standard

- **Pesticide Residues Limits in Meat Products**

DOH Food No. 85010179 Announced, 2/ 12/1996

**Note 1: Pesticides not listed in the table shall not be
detected.**

**Note 2: Both the MRLs (ppm) and the actually detected
residues of pesticides are calculated on the basis
of the weights of the products sold on the market.**



BFDA

2

Note 3: The examination of pesticide residues shall include the pesticide itself and its metabolites.

Note 4: The offals listed in this table are edible parts.

Note 5: The maximum residue limit of pesticide of milk products marked with "F" should be calculated in the following way:

- (1) If the fat content of the milk products is less than 2%, the maximum residue limit of pesticide of milk should be half of the maximum residue limit of pesticide of milk.**
- (2) If the fat content of the milk products is equal to or more than 2%, the maximum residue of pesticide of milk products should be 25 times of the maximum residue limit of pesticide of milk.**

BFDA

3

Legal framework



Food Sanitary Standard

- **Veterinary Drug Residue Limits in Foods**
DOH Food No. 0940403032 Amended, 4/ 15/2005

Article 1: The Standard is prescribed in accordance with the provisions of Article 10 of the Act Governing Food Sanitation.

Article 2: The examination of veterinary drug residues referred in this Standard shall be marker residue, including the drug itself and its significant relevant metabolites.

BFDA

4



Article 3: The veterinary drug residue limits in foods shall meet the following table. Veterinary drugs not listed in the Table shall not be detected. For those listed veterinary drugs not permitted to be used by Council of Agriculture, Executive Yuan shall only apply to the imported products.

BFDA

5

Monitoring Program

Imported and Domestic Meat Products

➤ Antibiotics

**tetracyclines—tetracycline, chlortetracycline,
oxytetracycline, doxycycline**

**gentamicin, penicillin, streptomycin, tylosin,
erythromycin, neomycin, lincomycin, chloramphenicol**

➤ Synthetic Antibacterial substances

**sulfadugs— sulfamerazine, sulfamethazine,
sulfamonomethoxine, sulfadimethoxine,
sulfaquinoxaline**

BFDA

6

Monitoring Program

➤ Synthetic Antibacterial Substances

quinolones— nalidixic acid, flumequine, oxolinic acid,
piromidic acid, danofloxacin, Sarafloxacin
nicarbazin, carbadox, clopidol, furazalidone

➤ Anabolism Hormones

17 β -estradiol, zeranol, progesterone, testosterone,
diethylstilbestol (DES), hexestrol, trenbolone--17 α -
trenbolone, 17 β -trenbolone, β -agonist- clenbutrol,
mabuterol, salbutamol

BFDA

7

Monitoring Program

➤ Pesticide

α -BHC, β -BHC, lindane, HCB, aldrin, endrin, dieldrin, DDT,
DDE, mirex, heptachlor, heptachlor-epoxide, α -chlordane, β -
chlordane, toxaphene, endosulfan

➤ PCBs

3Cl PCB congeners, 4Cl PCB congeners (27 compounds)

BFDA

8

※ 專題報導 ※

參加「AOAC INTERNATIONAL」第一一八屆年會之膳食補充品之單一實驗室分析方法確效訓練課程紀實（一）

蔡佳芬

隨著二十一世紀的到來，由於全球「自然療法」的風行，傳統中藥逐漸受到各國的重視，將傳統中藥以藥材直接乾燥磨粉或萃出物之型態添加於膳食補充品中，時有所見，不論是國產或進口品充斥於國內市面上，但是長期以來中藥本身的作用機制及有效成分並不明確，質量標準也尚未完全建立，再加上偽、劣藥材，極可能影響國人的食用安全及健康。鑑於對膳食補充品中添加之各宣稱功效成分之查驗需求，各國對建立功效成分之檢驗方法都有其迫切性，而由於行銷之國際化，在國與國間因檢驗方法之差異衍生的爭議，產生了諸多困擾。在筆者之實驗室易常因消費者、各地方衛生局、民意代表、法院及健康食品查驗等之詢問及檢驗需求，需要針對產品功效成分進行方法確效。因此利用出席本次 AOAC INTERNATIONAL 第一一八屆年會之機會，參加本訓練課程，以習得國際認同之方法，並了解其發展趨勢。此次訓練課程之參訓者，來自美國、馬來西亞、日本、紐西蘭及台灣之官方及民間實驗室，共計 22 員。訓練課程之講師為 Dr. Mark C. Roman，任職於美國 ChromaDex 公司，擔任研究發展部門主管，其有 15 年化學、藥品及營養補充品領域豐富之研發實驗室工作經驗。在訓練課程中，講師依序對相關名詞定義、實施單一實驗室確效工作之時機、方法之建立與確效之相關步驟及要求、及報告產出等項，進行原理說明及範例介紹，透過不斷的討論，使學員能了解課程內容，並能將之有效應用於日常工作中。以下即針對本訓練之課程內容提出報告，而詳細之內容，請參閱筆者之出國報告。

壹、名詞定義：

一、分析方法（Method of analysis）：

從準備至結果報告產出之詳細指導，當完全遵循其操作時，所產出之結果始得被所陳述之目的接受。有時方法會因分析儀器而為可變動的，如 HPLC, GC, AA 等，有時方法只適用於單一儀器分析條件。就像是個處方，其不只是

單有原料成分，方法中亦不只是包含儀器條件而已。

二、功能特性 (Performance characteristics)：

在特定操作條件下，所展現的功能品質及統計量測之可信度。也就是“這方法有多「好」？”所謂功能品質包含：適用範圍 (applicability, scope)、專一性 (selectivity)、精確度及變異性 (precision, variability)、可信度及回收率 (reliability, recovery)、範圍 (range)，亦即展現“功能的極限為何？”

三、確效 (validation)：

性能特性為對分析方法功能特性之展示或證實的操作。確效可分為下列三級：完整實驗室間比對 (full collaborative study)，至少 8 個實驗室參與；視同已證實之方法 (peer-validated method)，2-8 個實驗室參與；單一實驗室確效方法 (single-laboratory validated method)。單一實驗室確效適用於一個特定的操作者或多個操作者、特定實驗室及設備。因設備之製造廠牌不同、操作原理不同 (如高壓及低壓混合、溫控及非溫控管柱、注入方式等)、人員素質 (訓練、個人技能、方法熟悉度) 等之影響，所以單一實驗室確效無法提供實驗室間方法之再現性。

貳、單一實驗室確效的實施時機：

當無法於確效實驗室外操作此方法時，單一實驗室確效是有用的，如產品有權限問題、樣品數有限、研究及開發時、單一製造者之單一成分品質管制、其他實驗室並無興趣、不切實際或作為實驗室間確效的開始點等。而在確效過程中可發現問題，並解決之，這個循環持續運行，尤其是當有新的配方、新的原料供應商、與其他方法之比較時，確效與開發是持續進行的。如一個含咖啡因的產品，其配方可能因修改而導致親脂性成分的加入，此時就需要對原先使用之咖啡因分析方法進行部分修改，並進行再確效。

參、方法建立之步驟：

一、適用範圍：

(一) 方法建立前需先就以下事項進行識別，如方法之待測物、基質、分析濃度範圍、定性或定量等。分述如下：

1. 待測物：要找尋什麼化合物，如貫葉連翹之金絲桃草 (St. John's wort) 之分析，是要分析金絲桃草素 (hypericin)、偽金絲桃草素 (pseudohypericin)、hyperforin、adhyperforin 或是類黃酮。還是要依據其標示宣稱、法規要求、

安全或效能爭議、市場策略等需求。並要界定單一成分與群組成分間之關係，如人參皂素 Rb1 及人參皂素、紫錐花配糖體 (Echinacoside) 及總酚、金絲桃草素及 dianthrones。而確認分析物是否含鹽基亦是重要的，因其影響後續之結果計量，如小柏鹼(berberine)及 berberine 鹽酸鹽、葡萄糖胺及葡萄糖胺鹽酸鹽。當有參考物質供應時，則要考量參考物質之純度、不確定度、文件、追溯性、來源 (NIST/EPA, USP, 化學物質供應商)，因應不同分析需求，以採購適合等級之產品。

2. 基質：不論是單一成分 (咖啡因、葡萄糖胺、SAmE、MSM、褪黑激素等原料)、植物 (全株或磨粉，可能含有纖維質、蛋白質、碳水化合物、核苷酸等)、萃出物 (液體；粉末，如麥芽糊精、磷酸鈣、乳糖、纖維素等；"柔軟質 soft"，如卡法根 Kava、非洲刺李 Pygeum)、供食型態 (錠劑、硬殼膠囊、軟殼膠囊、酞劑 tinctures) 或機能性食品 (高蛋白混合飲料、能量補給飲料、能量補給棒、咀嚼物)，單一實驗室確效應於適用範圍中將所有基質定義清楚。原料分析之目的顯然會與終產物分析不同，原料分析著重於鑑定 (指紋分析)、主要指標性化合物之活性或濃度，而終產物分析則著重於特定物質及其含量之確認、標示之符合性及濃度之一致性、可能是植物單一指標成分之測試或一個方法中多成分之測試、品保人員如何確認原料添加是正確的。所以在原料分析時如能對原料作明確地特性分析，並知道指標性成分之含量，則終產物分析就可清楚鑑別及定量。另外尚需考量樣品基質之均勻度、減量取樣的過程及程序、保存條件等。
 3. 分析濃度範圍：濃度可能於檢出限量附近，如毒性物質或不純物 (如農藥、重金屬、黃麴毒素、馬兜鈴酸 aristolochic acid、比咯啉植物鹼 pyrrolizidine alkaloids)，其容易導致嚴重結果判定錯誤，而由於濃度較低，通常需要較特殊的淨化或分析技術。濃度也可能幾乎為樣品的全量，如原料之分析 (維生素、礦物質、葡萄糖胺等)。分析時濃度會影響方法是需經稀釋或濃縮處理。
- (二) 分析數據之用途為何？是產品放行前、安定性、加工均一性或研發等測試。
- (三) 多久會使用本方法一次。
- (四) 結果錯誤時會產生什麼樣的風險，低風險：標的化合物不會有明顯之生理活性或安全問題，僅作為加工管控用，如紫錐花 (echinacea) 中 phenolic acid 之分析，當歸中主要香料成分莽內酯 (ligustilide) 之分析等。中風險：強烈

懷疑具生理活性之化合物，過量攝取可能有安全疑慮，如維生素、咖啡因、麻黃素 (ephedra alkaloids)。高風險：有顯著安全危害之化合物，如馬兜鈴酸、比咯啉植物鹼、黃麴毒素、膳食補充品中添加非法藥物等。

(五) 方法使用單位及機構之性質，如工廠、合約實驗室、法規執行單位或大學等。

二、方法之最佳化：進行確效前應先將方法最佳化，分析時間是否可再縮短，專一性是否可再增進而不增加分析時間，萃取率、樣品及標準品之安定性是否考量。

(一) 萃取率：考量溶解率、基質效應、分解及顆粒大小等，分別進行以不同濃度比例之溶媒萃取率之比較，不同溶媒間萃取率之比較，不同溫度，超音波振盪時間，萃取次數，稀釋次數造成濃度之改變（如果每次稀釋 2 倍，理論上其濃度應為原來之 1/2，如果所得到的濃度偏離其理論值，偏高則表示低溶解率，偏低則表示操作過程越多可能會造成待測物之分解）。

(二) 方法之撰寫：應簡單、明瞭且合乎邏輯的。可依循 ISO 相容之格式撰寫，包含題目、適用範圍、設備、試劑、本文（標準品或樣品之製備）、計算、備註。方法應完全被遵循，有任何小修正即視為另一方法，分屬不同之確效。方法中對影響深遠之試劑、標準品、樣品等，可敘明其管制及穩定度測試相關要求及管制圖解讀等資料。設定可接受範圍，如在 AOAC 的指引中有以下之要求：重量 $\pm 10\%$ ，溫度 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，pH 值 ± 0.05 ，時間 $\pm 5\%$ ，體積則因選用級數佳之產品而可忽略其不確定度。

三、確效草案之撰寫：可將草案分割為多個片段，分別確認每一執行片段該注意之事項，如時間、材料、人員等。

(一) 界定適用範圍。

(二) 分配責任。

(三) 詳細說明欲探討的功能特性物質及其探討步驟。

(四) 提供每一功能特性物質可接受的限量及規格。

(五) 儘可能說明詳細，以避免混淆，包括樣品批次，參考物質等。-----待續



※ 專題報導 ※

參加「AOAC INTERNATIONAL」第一一八屆年會 膳食補充品之單一實驗室分析方法確效訓練課程紀實

蔡佳芬

---接續上期---

肆、功能特性：

一、選擇性 (selectivity)：

在樣品中發現預期存在成分，其量測準確之能力，在 IUPAC 較偏好選擇性。一個方法的選擇性可由以下資訊獲得：層析的選擇性，液液相萃取，固相萃取，酵素反應，偵測技能之專一性。不明的、隨機出現或因前次分析時遺留之干擾物所導致分析結果之系統性誤差。選擇性可以由空白基質來證明，空白基質可能是含有樣品所有組成，但不含待測成分，所謂典型的陽性樣品，在不同分析濃度下其選擇性之要求是不同的。

空白可分為基質、方法、設備或溶媒及領域空白。基質空白：一個不含待測成分之可重現的樣品，用來展現完整方法的選擇性。方法空白：可用來探討方法操作中由器具、樣品製備及儀器偵測所造成的干擾，在無法取得基質空白時，是一個有用的方式。設備或溶媒空白：將用於樣品或標準品之溶媒直接注入儀器，展現儀器及稀釋所產生的干擾。領域空白：樣品容器及成分依樣品操作，用來探討操作及貯放對樣品造成的干擾程度。

在植物分析中真正的基質空白是無法取得的，有時可以相同屬而不含待測物的植物來替代，如以 *Ephedra nevadensis* 替代 *Ephedra sinica*，當可取得待測物除外更多的標準品時，則有利於方法干擾之探討，如植物分析其鑑別多使用 PDA、LC-MS、分段收集再偵測或衍生化。當干擾物質分離程度較佳時，PDA 及 MS 是很好的分析工具。但仍應有一個認知，其非為藥品分析，無法期待可以得到良好的分離效果。而針對藥效成分，酸水解、鹼水解、氧化、光解、熱解等均需被探討，其解析力將十分重要。

二、專一性 (Specificity)：特定成分之量測準確性，不致被其他成分干擾之能力。

三、計量 (Calibration)：

(一) 線性迴歸檢量線：

通常選用直線迴歸，以方程式 $A = mC + b$ 來表示。標準品檢量線之濃度應涵蓋待測之濃度範圍，至少偵測 5 點濃度，當濃度範圍越廣，則分析點數應增加。有時分析無法以直線迴歸方式計量，偵測器已達飽和、溶解度、感度欠佳、分析物吸附及溶媒或儀器之干擾。相對變異係數 (r^2) 一般要求於 0.995 以上。在系列分析後，將迴歸方程式之斜率 (slope) 及截距 (intercept) 分別計算其標準偏差，依 T test 查表可得其在

95%信賴區間下，是否有明顯差異。

(二) 單點比對：

使用單點比對確實可以減少分析時間，但在使用前應先確認其測量濃度是否靠近標準品濃度，且應先確認截距近於 0。進行各點之確認，計算各濃度範圍的反應當量 (RF) 及標準偏差 (SD)，並對平均反應當量計算其相對標準偏差 (RSD)。

(三) 次級標準品比對

在初級標準品無法取得、不穩定或價格昂貴時，可使用次級標準品。次級標準品是一種相似而足以代表待測物之物質，如以辣椒素 (capsaicin) 來計量薑辣素 (gingerols)，以卡瓦素 (kavain) 來計量總卡瓦內酯 (kavalactone)，以兒茶素 (catechin) 來計量表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (epigallocatechin gallate) 等。首先應先確認初級及次級標準品間相對反應當量，通常以兩者間反應當量之比值表示。使用次級標準品之限制為對每一儀器進行相對反應當量之計算，於儀器零件更換時應重新計算，並應週期性 (最久 6 個月) 執行計算。

(四) 內部標準品

將一個已知且化性和待測物相似而又能加以區分的化合物添加於標準品及樣品溶液中，執行內部標準品計量。其可應用於複雜樣品之操作，如固相萃取、液液相萃取、衍生化及多重稀釋等，其可校正處理所引起的誤差。固定內部標準品之添加量，將待測物及內部標準品之波峰面積比值對應待測物濃度做圖，計算迴歸方程式。但內部標準品難以尋得，且增加標準品配製時間，在前處理簡單之分析時反而有增加誤差及降低再現性之可能。

(五) 標準添加法：

當基質可能影響待測物或其影響未知時，使用標準添加法，一般應用於分光光度法分析。將檢液分為數份 (至少 3 份) 分別置入定容瓶，加入不同濃度及一個未添加之標準品，並定容之。偵測後以添加濃度對反應量做圖，算出迴歸線之截距及斜率，再依取量算出樣品之濃度。

四、準確度 (Accuracy)：

表示其接近真值、參考值或可接受值之程度。其可為單一測試、 n 個測試或 m 組的 n 個測試，量測值與真值間之差異即為 bias。Bias 是一個系統誤差，來源有三：儀器誤差、方法誤差及人為誤差，應與隨機誤差區分。準確度有時以回收率表示，可利用參考物質 (SRM 等)，如國家或商業供應之標準參考物質 (如 NIST、EPA、Ultra Scientific、Cerilliant 等)，其經官方方法確認且經實驗室間比對測試後供應，或當參考物質無法取得時，以基質添加方式進行，基質可能為不含待測物之樣品，或相似於樣品之物質。其

添加之濃度範圍應涵蓋樣品濃度範圍，多以最低檢出量、期望值之 50%、100%及 200% 為濃度添加量。通常至少執行 7 個重複試驗，在不同的三天分別於每一濃度進行三重復，共計每個濃度有 9 個重複試驗。計算其回收率、平均值、同一濃度之標準偏差，並以 ANOVA 分析不同濃度間其平均回收率之差異性。通常其可接受範圍如下表所示，

濃度	單位	回收率範圍%
100	%	98-101
10	%	95-102
1	%	92-105
0.1	%	90-108
0.01	%	85-110
10	ppm	80-115
1	ppm	75-120
10	ppb	70-125

而 Codex 指引為下表：

濃度	單位	可接受範圍%
<1	ppb	50-120
1-10	ppb	60-120
10-100		70-110
>100	ppb	80-110

將分析值以 ANOVA 進行 F test 來確認其有無顯著差異，範例如下：

組別	次數	總計	平均	變異
50%添加量	7	725	103.5714	1.309048
100%添加量	7	708.8	101.2571	0.19619
200%添加量	7	692.9	98.98571	0.258095

ANOVA 分析

變異的來源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
	73.6028					
組別間	6	2	36.80143	62.62223	7.82E-09	3.554561
組別內	10.58	18	0.587778			
總計	84.1828					
	6	20				

F > F crit 表示在組別間有顯著差異。

五、再現性 (Repeatability):

通常表示同精確性 (precision)，有儀器精確性、同一天之精確性、不同天之精確性及不同分析人員間之精確性。準確性展現的是 Bias 或系統性誤差，而精確性展現的是隨機誤差。在條件儘可能恆定的狀況下，再現性是表示對結果認同的程度，其以重複間之標準偏差來表示。

以 r 表示一天中之重複分析數， n 表示不同之樣品數， d 表示天數，則 $r \times d$ 不少於 10， d 至少 2， n 至少 2，如果空白分析是必須的，則每天之操作均應含空白分析。同一天之標準偏差為 S_w ，不同天之標準偏差為 S_b ，總標準偏差為 $S_t = (S_w^2 + S_b^2)^{1/2}$ 。再現性之接受值可以 $RSD_r = C^{-0.15}$ 表示，其可接受值通常為 1/2-2。

六、險峻考驗 (Ruggedness trial):

在方法開發或確效時，可以應用險峻考驗的方式，先將分析時可能對待測物造成重大影響之因子列出，如溫度、pH、有機物之含量等，一次探討一個因子將耗費很多時間，可以應用 Youden Ruggedness Trial 來分析，先選列影響可能最大的 7 個因子，寫出每一個因子之高及低的可能值，如下表

因子	高	低
取樣重量	A=1000 mg	a=500 mg
溫度	B=40°C	b=20°C
溶媒體積	C=75 mL	c=25 mL
萃取時間	D=30 min	d=15 min
萃取方式	E=超音波及振盪	e=振盪
溶媒	F=乙腈	f=50:50 乙腈/水
光照	G=光	g=暗

以排列組合的方式列出 8 種組合，如下表

試驗	組合	量測值
1	ABCDEFG	X1
2	AbcDefg	X2
3	AbCdEfg	X3
4	AbcdeFG	X4
5	aBCdeFg	X5
6	aBCdeFg	X6
7	aBcdEfg	X7
8	abcDEFg	X8

A 及 a 之影響： $J = [(x_1 + x_2 + x_3 + x_4)/4] - [(x_5 + x_6 + x_7 + x_8)/4]$

B 及 b 之影響： $K = [(x_1 + x_2 + x_5 + x_6)/4] - [(x_3 + x_4 + x_7 + x_8)/4]$

同理分別算出其影響值，做圖後找出偏離 0 點最遠之理由，顯示其對數鉅之影響是大的，應嚴格管制。

七、最低檢出限量 (LOD 及 LOQ)：

在檢出極限邊緣之量測應注意背景雜訊是否影響量測值，重複注射極低含量之分析液後，以學生 t test 來分析， $LOD = t_{(n-1, 1-\alpha)} \times s$ ，n 表示重複注射次數，s 表示標準偏差，n 越大則 LOD 越低。8 重複注射時 (自由度 7，t Crit 為 2.998)，此時 LOD 接近於 3SD。

LOD 有時由 $3 \times S/N$ 比值表示，LOQ 為 $10 \times S/N$ 比值，但仍應做方法確效及計算此濃度之標準偏差。在數據表示時不可將未檢出寫為 0。

伍、確效報告：

結果報告中包含確效資訊將助於其他技術人員、顧客或管理單位之了解及決策。報告中應包含

一、題目：

(一) 以○○儀器分析○○中○○分析物分析方法之單一實驗室確效。

(二) 作者或參與者姓名。

二、適用範圍：包括分析物、基質及安全考量。

三、主旨：樣品製備之技術、量測及干擾。

四、試藥：標準參考物質、溶劑、緩衝液等，標示其等級、來源或純度等訊息。

五、設備：分析儀器、前處理儀器、溫控設備等，標示其操作條件及要求，預期分析時間等。

六、檢量線：範圍、線性資料、檢量線及標準溶液之安定性。

七、步驟：樣品前處理、標準品製備、注射排序 (標準品之間隔)。

八、計算：方程式、符號、圖譜、信賴區間。

九、管控條件：溫度、pH 值。

十、結果：含鑑別、確認、最低感度、安定性等資訊。

十一、結論。

EURACHEM / CITAC Guide CG 4

**Quantifying Uncertainty in
Analytical Measurement**

Second Edition

© IUPAC 2000

Example A1: Preparation of a Calibration Standard

Summary

Goal

A calibration standard is prepared from a high purity metal (cadmium) with a concentration of ca. 1000 mg l⁻¹.

Measurement procedure

The surface of the high purity metal is cleaned to remove any metal-oxide contamination. Afterwards the metal is weighed and then dissolved in nitric acid in a volumetric flask. The stages in the procedure are show in the following flow chart.

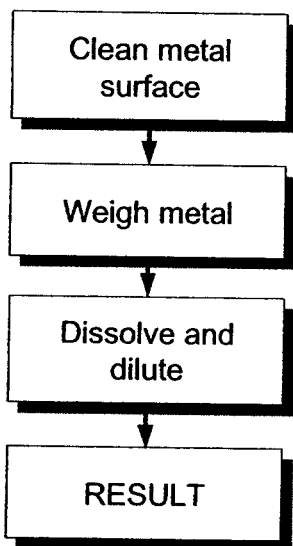


Figure A1. 1: Preparation of cadmium standard

Measurand

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} \text{ [mg l}^{-1}\text{]}$$

where

c_{Cd} :concentration of the calibration standard [mg l⁻¹]

1000 :conversion factor from [ml] to [l]

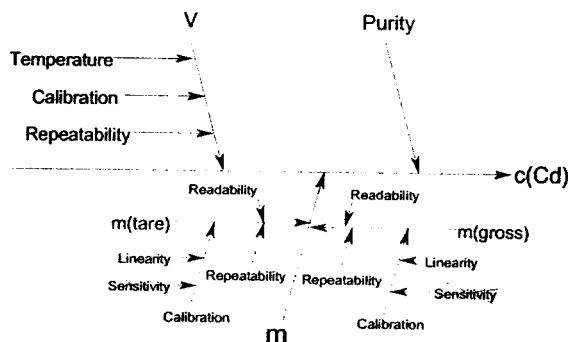
m :mass of the high purity metal [mg]

P :purity of the metal given as mass fraction

V :volume of the liquid of the calibration standard [ml]

Identification of the uncertainty sources:

The relevant uncertainty sources are shown in the cause and effect diagram below:



Quantification of the uncertainty components

The values and their uncertainties are shown in the Table below.

Combined Standard Uncertainty

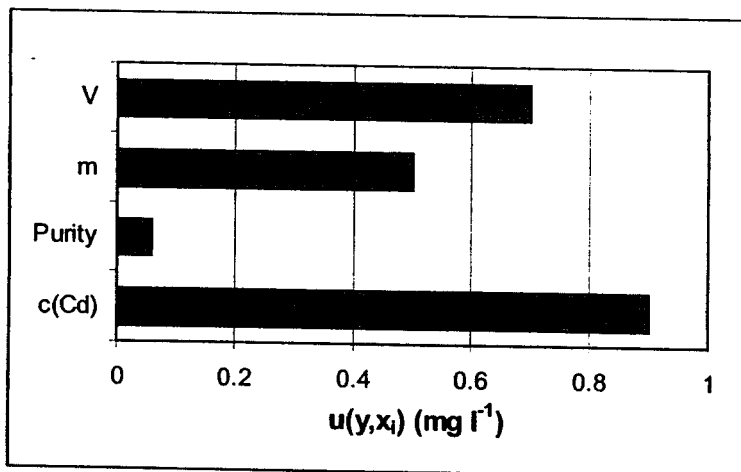
The combined standard uncertainty for the preparation of a 1002.7 mg l⁻¹ Cd calibration standard is 0.9 mg l⁻¹

The different contributions are shown diagrammatically in Figure A1.2.

Table A1.1: Values and uncertainties

<i>P</i>	Purity of the metal	0.9999	0.000058	0.000058
<i>m</i>	Mass of the metal	100.28 mg	0.05 mg	0.0005
<i>V</i>	Volume of the flask	100.0 ml	0.07 ml	0.0007
<i>c_{Cd}</i>	concentration of the calibration standard	1002.7 mg l ⁻¹	0.9 mg l ⁻¹	0.0009

Figure A1.2: Uncertainty contributions in cadmium standard preparation



The values of $u(y, x_i) = (\partial y / \partial x_i) \cdot u(x_i)$ are taken from Table A1.3

Example A1: Preparation of a calibration standard. Detailed discussion

A1.1 Introduction

This first introductory example discusses the preparation of a calibration standard for atomic absorption spectroscopy (AAS) from the corresponding high purity metal (in this example $\approx 1000 \text{ mg l}^{-1}$ Cd in dilute HNO_3). Even though the example does not represent an entire analytical measurement, the use of calibration standards is part of nearly every determination, because modern routine analytical measurements are relative measurements, which need a reference standard to provide traceability to the SI.

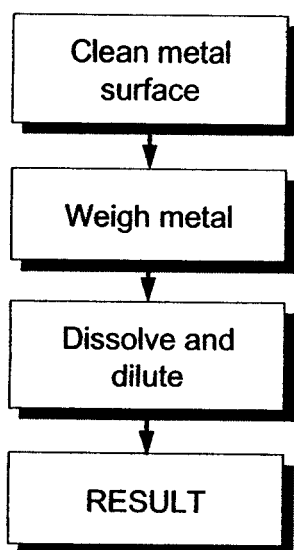
A1.2 Step 1: Specification

The goal of this first step is to write down a clear statement of what is being measured. This specification includes a description of the preparation of the calibration standard and the mathematical relationship between the measurand and the parameters upon which it depends.

Procedure

The specific information on how to prepare a calibration standard is normally given in a Standard Operating Procedure (SOP). The preparation consists of the following stages

Figure A1.3: Preparation of cadmium standard



The separate stages are:

- i) The surface of the high purity metal is treated with an acid mixture to remove any metal-oxide contamination. The cleaning method is provided by the manufacturer of the metal and needs to be carried out to obtain the purity quoted on the certificate.
- ii) The volumetric flask (100 ml) is weighed without and with the purified metal inside. The balance used has a resolution of 0.01 mg.
- iii) 1 ml of nitric acid (65% m/m) and 3 ml of ion-free water are added to the flask to dissolve the cadmium (approximately 100 mg, weighed accurately). Afterwards the flask is filled with ion-free water up to the mark and mixed by inverting the flask at least thirty times.

Calculation:

The measurand in this example is the concentration of the calibration standard solution, which depends upon the weighing of the high purity metal (Cd), its purity and the volume of the liquid in which it is dissolved. The concentration is given by

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} \text{ mg l}^{-1}$$

where

c_{Cd} :concentration of the calibration standard [mg l^{-1}]

1000 :conversion factor from [ml] to [l]

m :mass of the high purity metal [mg]

P :purity of the metal given as mass fraction

V :volume of the liquid of the calibration standard [ml]

A1.3 Step 2: Identifying and analysing uncertainty sources

The aim of this second step is to list all the uncertainty sources for each of the parameters which affect the value of the measurand.

Purity

The purity of the metal (Cd) is quoted in the supplier's certificate as $99.99 \pm 0.01\%$. P is therefore 0.9999 ± 0.0001 . These values depend on the effectiveness of the surface cleaning of the high purity metal. If the manufacturer's procedure is strictly followed, no additional uncertainty due to the contamination of the surface with metal-oxide needs to be added to the value given in the certificate. There is no information available that 100% of the metal dissolves. Therefore one has to check with a repeated preparation experiment that this contribution can be neglected.

Mass m

The second stage of the preparation involves weighing the high purity metal. A 100 ml quantity of a 1000 mg l^{-1} cadmium solution is to be prepared.

The relevant mass of cadmium is determined by a tared weighing, giving $m = 0.10028 \text{ g}$

The manufacturer's literature identifies three uncertainty sources for the tared weighing: the repeatability; the readability (digital resolution) of the balance scale; and the contribution due to the uncertainty in the calibration function of the scale. This calibration function has two potential uncertainty sources, identified as the sensitivity of the balance and its linearity. The sensitivity can be neglected because the mass by difference is done on the same balance over a very narrow range.

NOTE: Buoyancy correction is not considered because all weighing results are quoted on the conventional basis for weighing in air [H.19]. The remaining uncertainties are too small to consider. Note I in Appendix G refers.

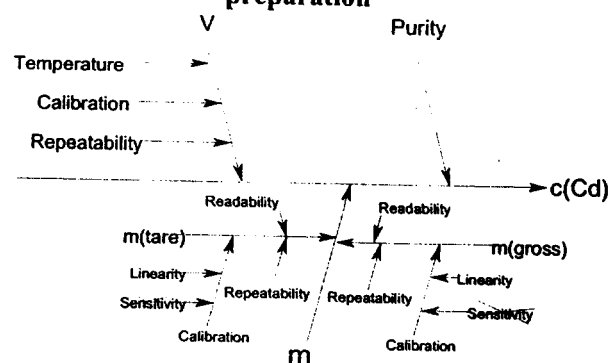
Volume V

The volume of the solution contained in the volumetric flask is subject to three major sources of uncertainty:

- The uncertainty in the certified internal volume of the flask.
- Variation in filling the flask to the mark.
- The flask and solution temperatures differing from the temperature at which the volume of the flask was calibrated.

The different effects and their influences are shown as a cause and effect diagram in Figure A1.4 (see Appendix D for description).

Figure A1.4: Uncertainties in Cd Standard preparation



A1.4 Step 3: Quantifying the uncertainty components

In step 3 the size of each identified potential source of uncertainty is either directly measured, estimated using previous experimental results or derived from theoretical analysis.

Purity

The purity of the cadmium is given on the certificate as 0.9999 ± 0.0001 . Because there is no additional information about the uncertainty value, a rectangular distribution is assumed. To obtain the standard uncertainty $u(P)$ the value of 0.0001 has to be divided by $\sqrt{3}$ (see Appendix E1.1)

$$u(P) = \frac{0.0001}{\sqrt{3}} = 0.000058$$

Mass m

The uncertainty associated with the mass of the cadmium is estimated, using the data from the calibration certificate and the manufacturer's recommendations on uncertainty estimation, as 0.05 mg. This estimate takes into account the three contributions identified earlier (Section A1.3).

NOTE: Detailed calculations for uncertainties in mass can be very intricate, and it is important to refer to manufacturer's literature where mass uncertainties are dominant. In this example, the calculations are omitted for clarity.

Volume V

The volume has three major influences; calibration, repeatability and temperature effects.

i) *Calibration*: The manufacturer quotes a volume for the flask of 100 ml ±0.1 ml measured at a temperature of 20 °C. The value of the uncertainty is given without a confidence level or distribution information, so an assumption is necessary. Here, the standard uncertainty is calculated assuming a triangular distribution.

$$\frac{0.1 \text{ ml}}{\sqrt{6}} = 0.04 \text{ ml}$$

NOTE: A triangular distribution was chosen, because in an effective production process, the nominal value is more likely than extremes. The resulting distribution is better represented by a triangular distribution than a rectangular one.

ii) *Repeatability*: The uncertainty due to variations in filling can be estimated from a repeatability experiment on a typical example of the flask used. A series of ten fill and weigh experiments on a typical 100 ml flask gave a standard deviation of 0.02 ml. This can be used directly as a standard uncertainty.

iii) *Temperature*: According to the manufacturer the flask has been calibrated at a temperature of 20 °C, whereas the laboratory temperature varies between the limits of ±4 °C. The uncertainty from this effect can be calculated from the estimate of the temperature range and the coefficient of the volume expansion. The volume expansion of the liquid is considerably larger than that of the flask, so only the former needs to be considered. The coefficient of volume expansion for water is $2.1 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1}$,

which leads to a volume variation of

$$\pm (100 \times 4 \times 2.1 \times 10^{-4}) = \pm 0.084 \text{ ml}$$

The standard uncertainty is calculated using the assumption of a rectangular distribution for the temperature variation i.e.

$$\frac{0.084 \text{ ml}}{\sqrt{3}} = 0.05 \text{ ml}$$

The three contributions are combined to give the standard uncertainty $u(V)$ of the volume V

$$u(V) = \sqrt{0.04^2 + 0.02^2 + 0.05^2} = 0.07 \text{ ml}$$

A1.5 Step 4: Calculating the combined standard uncertainty

c_{Cd} is given by

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} \quad [\text{mg l}^{-1}]$$

The intermediate values, their standard uncertainties and their relative standard uncertainties are summarised overleaf (Table A1.2)

Using those values, the concentration of the calibration standard is

$$c_{Cd} = \frac{1000 \times 100.28 \times 0.9999}{100.0} = 1002.7 \text{ mg l}^{-1}$$

For this simple multiplicative expression, the uncertainties associated with each component are combined as follows.

$$\begin{aligned} \frac{u_c(c_{Cd})}{c_{Cd}} &= \sqrt{\left(\frac{u(P)}{P}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2} \\ &= \sqrt{0.000058^2 + 0.0005^2 + 0.0007^2} \\ &= 0.0009 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} u_c(c_{Cd}) &= c_{Cd} \times 0.0009 = 1002.7 \text{ mg l}^{-1} \times 0.0009 \\ &= 0.9 \text{ mg l}^{-1} \end{aligned}$$

It is preferable to derive the combined standard uncertainty ($u_c(c_{Cd})$) using the spreadsheet method given in Appendix E, since this can be utilised even for complex expressions. The completed spreadsheet is shown in Table A1.3.

The contributions of the different parameters are shown in Figure A1.5. The contribution of the uncertainty on the volume of the flask is the

Table A1.2: Values and Uncertainties

Purity of the metal P	0.9999	0.000058	0.000058
Mass of the metal m (mg)	100.28	0.05 mg	0.0005
Volume of the flask V (ml)	100.0	0.07 ml	0.0007

largest and that from the weighing procedure is similar. The uncertainty on the purity of the cadmium has virtually no influence on the overall uncertainty.

The expanded uncertainty $U(c_{cd})$ is obtained by multiplying the combined standard uncertainty with a coverage factor of 2, giving

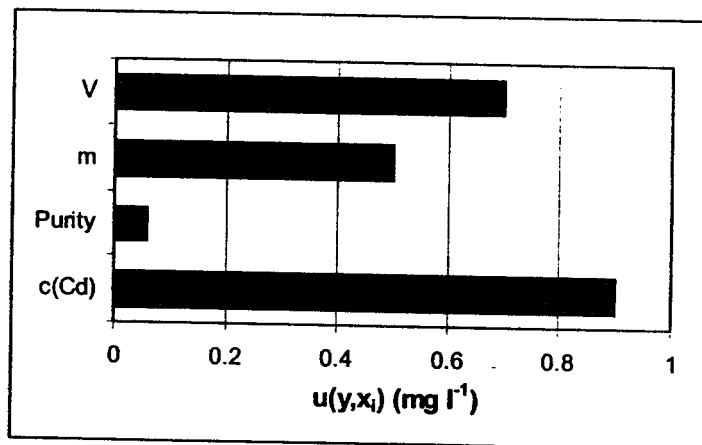
$$\sqrt{U(c_{cd})} = 2 \times 0.9 \text{ mg l}^{-1} = 1.8 \text{ mg l}^{-1}$$

Table A1.3: Spreadsheet calculation of uncertainty

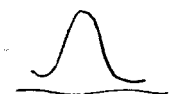
	B	C	D	E
		P	m	V
	Value	0.9999	100.28	100.00
	Uncertainty	0.000058	0.05	0.07
P	0.9999	0.999958	0.9999	0.9999
m	100.28	100.28	100.33	100.28
V	100.0	100.00	100.00	100.07
c(Cd)	1002.69972	1002.75788	1003.19966	1001.99832
$u(y, x_i)$		0.05816	0.49995	-0.70140
$u(y)^2, u(y, x_i)^2$	0.74529	0.00338	0.24995	0.49196
$u(c(\text{Cd}))$	0.9			

The values of the parameters are entered in the second row from C2 to E2. Their standard uncertainties are in the row below (C3-E3). The spreadsheet copies the values from C2-E2 into the second column from B5 to B7. The result $c(\text{Cd})$ using these values is given in B9. The C5 shows the value of P from C2 plus its uncertainty given in C3. The result of the calculation using the values C5-C7 is given in C9. The columns D and E follow a similar procedure. The values shown in the row 10 (C10-E10) are the differences of the row (C9-E9) minus the value given in B9. In row 11 (C11-E11) the values of row 10 (C10-E10) are squared and summed to give the value shown in B11. B13 gives the combined standard uncertainty, which is the square root of B11.

Figure A1.5: Uncertainty contributions in cadmium standard preparation



The values of $u(y, x_i) = (\partial y / \partial x_i) \cdot u(x_i)$ are taken from Table A1.3



**Example A4: Uncertainty Estimation from In-House Validation Studies.
Determination of Organophosphorus Pesticides in Bread.**

Summary

Goal

The amount of an organophosphorus pesticide residue in bread is determined employing an extraction and a GC procedure.

Measurement procedure

The stages needed to determine the amount of organophosphorus pesticide residue are shown in Figure A4.1

Measurand:

$$P_{op} = \frac{I_{op} \cdot c_{ref} \cdot V_{op}}{I_{ref} \cdot Rec \cdot m_{sample}} \cdot F_{hom} \text{ mg kg}^{-1}$$

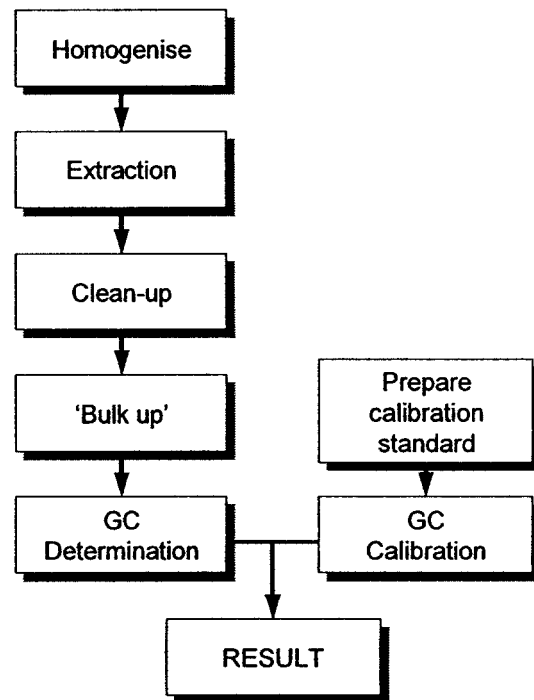
where

- P_{op} :Level of pesticide in the sample [mg kg⁻¹]
- I_{op} :Peak intensity of the sample extract
- c_{ref} :Mass concentration of the reference standard [µg ml⁻¹]
- V_{op} :Final volume of the extract [ml]
- I_{ref} :Peak intensity of the reference standard
- Rec :Recovery
- m_{sample} :Mass of the investigated sub-sample [g]
- F_{hom} :Correction factor for sample inhomogeneity

Identification of the uncertainty sources:

The relevant uncertainty sources are shown in the cause and effect diagram in Figure A4.2.

Figure A4.1: Organophosphorus pesticides analysis



Quantification of the uncertainty components:

Based on in-house validation data, the three major contributions are listed in Table A4.1 and shown diagrammatically in Figure A4.3 (values are from Table A4.5).

Table A4.1: Uncertainties in pesticide analysis

Description	Value x	Standard uncertainty u(*)	Relative standard uncertainty v(*)	Comments
Repeatability(1)	1.0	0.27	0.27	Based on duplicate tests of different types of samples
Bias (Rec) (2)	0.9	0.043	0.048	Spiked samples
Other sources (3) (Homogeneity)	1.0	0.2	0.2	Estimation based on model assumptions
P_{op}	--	--	0.34	Relative standard uncertainty

Figure A4.2: Uncertainty sources in pesticide analysis

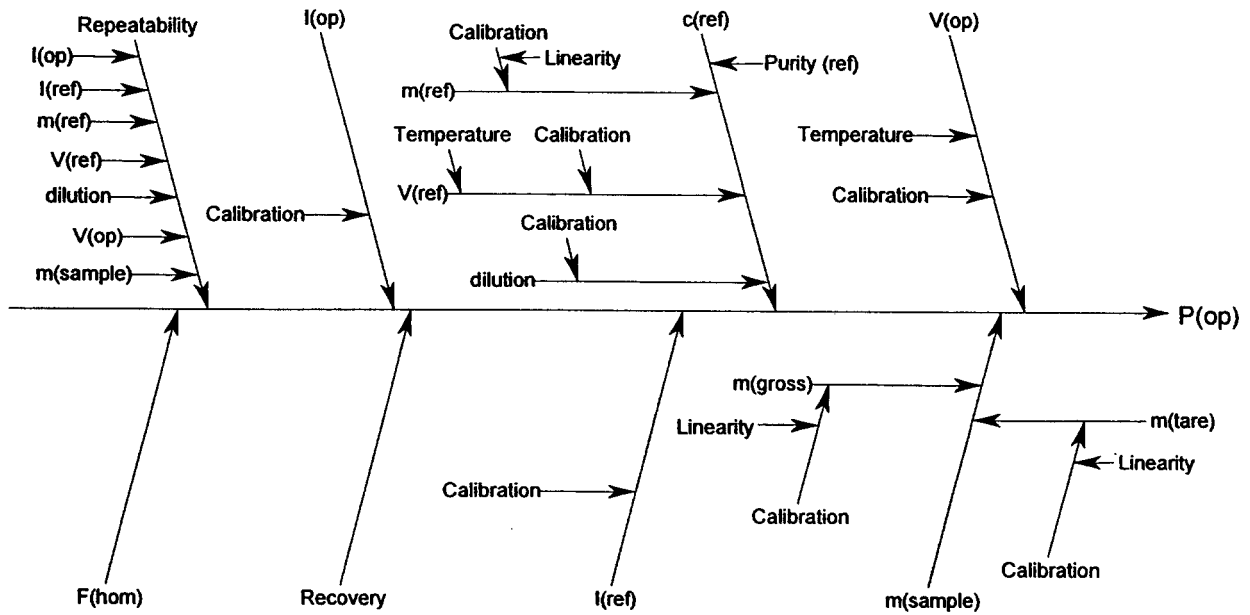
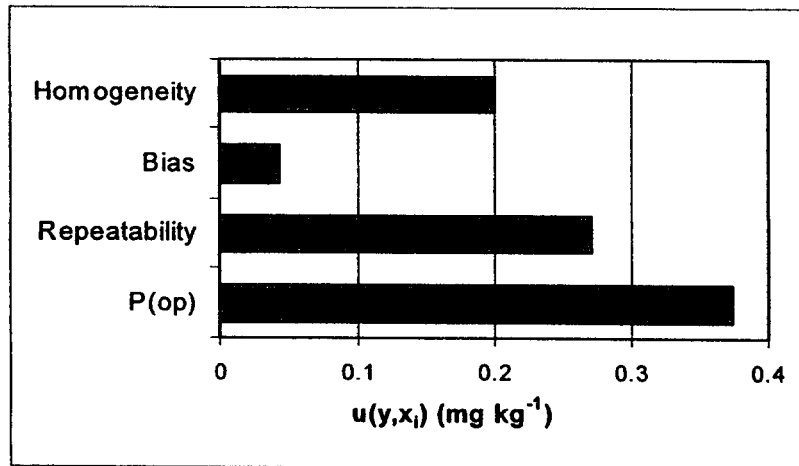


Figure A4.3: Uncertainties in pesticide analysis



The values of $u(y, x_i) = (\partial y / \partial x_i) \cdot u(x_i)$ are taken from Table A4.5



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA
 Subsecretaria de Estado de Ganaderia
 Laboratorio Control de Residuos
 San Lorenzo - Paraguay
 Tel: 510 509

Nº 08951

INFORMACIONES GENERALES

Frigorifico: Nº
 Establecimiento Ganadero:
 Propietario:
 Distrito: Dpto.:

DATOS RELACIONADOS AL MUESTREO

Especie: Nº tropa/Lote Nº animal Edad
 Fecha de Faena: Hora de Colecta Sexo
 Nº guia de traslado

TEJIDO	HIGADO	RINON	MUSCULO	ORINA	GRASA	TIROIDES	OTROS
Nº DE MUESTRA							

ANALISIS REQUERIDOS

DES	X			X			
Hexoestrol	X			X			
Dienoestrol	X			X			
Tireostaticos			X			X	
19-Nortestosterona				X			
Trembolona				X			
Zeranol				X			
B. Agonistas	X			X			
Nitrofuranos	X						
Tranquilizantes				X			
Antibióticos	X	X	X				
Sulfonamidas	X						
Ivermectina	X						
Levamisol	X						
Benzimidazoles	X						
Anticoccidiales							
Piretroides	X						
Clorados + PCBs					X		
P. Fosforados	X						
Met. Pesados	X	X	X				
Micotoxinas							X
Quinolonas			X				
Cloranfenicol			X				

因儀器故障
 無法檢驗
 下列項目

Equip. defect.

SUMB TES

(Feed)
 A. Balou

Expertos clínicos llevan como muestra

Laboratorio de Control de Residuos

Inspeccion Veterinaria



SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SALUD ANIMAL
S E N A C S A



DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO
CASILLA DE CORREO CAPY - 11001 - 11110 CAMPUS UNA - 2169 PARAGUAY
TELEFONO: 505-727 501-374 - 507-862 FAX: 507-863
E mail : senacsa@senacsa.gov.py Web site: www.senacsa.gov.py

ANUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT
IN PARAGUAY FOR THE YEAR 2005

1 Group of substance	2 Compounds	3 Matrix	4 Laboratory method	5 L.D.L. ug/kg/l	6 Level of Action ug/kg/l	7 Number of samples
A-1 Stilbenes	DES Hexoestrol Dienoestrol	Urin	ELISA HPLC/ELISA GC/MS	2	2(*)	140 Slaught. Bov. -- 140 140 live Bov. -- 140
A-2 Antithyroid agents	Propilthiouracil Phenilthiouracil	Thyroids glands Muscle	Gravimetric > 45 g HPLC	25.9 27.8	25.9(*) 27.8(*)	100 Slaught. Bov.
A-3 Steroids	19- Nortestosterone Trenbolone	Urin	ELISA HPLC/ELISA GC/MS	2	2(*)	75 Slaught. Bov. 75 live Bov.
A-4 Resorcyol lactones	Zeranol Zearalanol Zearalenol	Urin	ELISA HPLC/ELISA GC/MS	2	2(*)	150 Slaught. Bov. 150 live Bov.

(*) Compounds are prohibited from use



SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SALUD ANIMAL
S E N A C S A



DIRECCION: Km. 10 ½ RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO
CASILLA DE CORREO CAPY - 11001 - 1110 CAMPUS UNA - 2169 PARAGUAY
TELEFONO: 505-727 501-374 - 507-862 FAX: 507-863
E mail: senacsa@venacsa.gov.py Web site: www.senacsa.gov.py

**ANUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT
IN PARAGUAY FOR THE YEAR 2005**

1	2	3	4	5	6	7
Group of substance	Compounds	Matrix	Laboratory method	L.D.L. ug/kg/l	Level of Action ug/kg/l	Number of samples
A-5 Beta-agonists	Clenbuterol	Liver	ELISA			100 Slaught. bov.
	Salbutamol	Urin	HPLC/ELISA	1	1(*)	100 Live bov.
	Mabuterol	Feedstuff	GC/MS			30 Feedstuff
	Carbuterol					
	Brombuterol					
	Terbutalin					
A-6 Compound included in Annex IV EEC N° 2377/90	Furazolidone	Muscle	HPLC	1,3	1.3(*)	
	Nitrofurazone			0,8	0.8(*)	100 Slaught.bov.
	Nitrofurantoin			0,4	0.4(*)	
B-1 Antibacterial substances	Chloranfenicol	Muscle	GC - HPLC	1	1(*)	100 Slaught.bov.
	Streptomycin		Swab test		500	
	Neomicin	Kidney	Drei-Platten test	25 - 50	500	
	Eritromicin	Muscle	Bioassay		100	83 Slaught.bov.
	Penicillin	Liver	HPLC		600	
	Tetraciclina	Muscle			250	
	Sulphametazine				2,67	
	Sulphapiridine	Liver	HPLC		2,5	
	Sulphaquinoxaline	Muscle			2,2	83 Slaught.bov.
	Sulphadimetoxine				2,8	
Ciprofloxacin				4,7		
Norfloxacin	Muscle	HPLC		6,1	NE	83 Slaught.bov.
Enrofloxacin				5,4		

(*) Compounds are prohibited from use
NE: Level not established



SENACSA

DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO
CASILLA DE CORREO CAPY - 11001 - 1110 CAMPUS UNA - 2169 PARAGUAY
TELEFONO: 505-727 501-374 - 507-862 FAX: 507-863

E mail: sena.sna@senacsa.gov.py Web site: www.senacsa.gov.py

ANUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT IN PARAGUAY FOR THE YEAR 2005

1	2	3	4	5	6	7
Group of substance	Compounds	Matrix	Laboratory method	L.D.L. ug/kg/l	Level of Action ug/kg/l	Number of samples
B-2 (a) Anthelmintics	Abamectina Ivermectina Levamisol Albendazole Fenbendazole	Liver	HPLC GC	6,4 5,93 4,4 68 65,4	15 15 100 ---- 800	70 Slaught. bov. 70 Slaught. bov. 70 Slaught. bov.
B-2(b) Anticoccidials						
B-2(c) Carbamates and Piretroides	Permetrin a-Cypermethrin Deltamethrin	Liver	GC	3,54 29,17 22,77	200 200 200	30 Slaught. bov.
B-2(d) Sedatives	Carazolol	Urin	HPLC		NE	30 Slaught. bov.

NE: Level not established



SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SALUD ANIMAL
S E N A C S A



DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL, ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO
CASILLA DE CORREO CAPY - 11001 - 1110 CAMPUS UNA - 2169 PARAGUAY
TELEFONO: 505-727 501-374 - 507-862 FAX: 507-863
E mail : senacsa@senacsa.gov.py Web site: www.senacsa.gov.py

**ANUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT
IN PARAGUAY FOR THE YEAR 2005**

1	2	3	4	5	6	7
Group of substance	Compounds	Matrix	Laboratory method	L.D.L. ug/kg/l	Level of Action ug/kg/l	Number of samples
B-3(a) Organochlorine compounds and PCBs	a- HCH			1,4	120	
	Lindane			1,9	120	
	HPT			1,9	200	
	Aldrin			2,4	120	
	Dieldrin			2,7	120	
	Endosulfan			10	120	
	DDT	Fat	GC	6,4	600	50 Slaught. bov
	TDE			6,4	600	
	Metoxichlor			150	3000	
	PCB 1248			300	3000	
PCB 1254			300	3000		
PCB 1242			300	3000		
PCB 1260			300	3000		
B-3(b) Organophosphorus compounds	Diazinon			4,49	420	
	Ethion			12,9	1000	
	Fenthion			4,39	100	
	Fenitrothion	Liver	GC	5,38	300	50 Slaught. bov.
	Clorfenvifos			17	120	
	M-Parathion			6,6	NE	
	Diclorvos			14	NE	
Chlorpirifos			50	2000		
B-3(c) Chemicals elements	Lead	Kidney		106	1000	
	Cadmium	Liver		58,6	1000	50 Slaught. bov.
	Mercury	Muscle	A.A.	31	1000	

DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO
 CASILLA DE CORREO CAPY - 11001 - 1110 CAMPUS UNA - 2169 PARAGUAY
 TELEFONO: 505-727 501-374 - 507-862 FAX: 507-863

E mail : senacsa@senacsa.gov.py Web site: www.senacsa.gov.py



ANNUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT

**ANNUAL PLAN FOR THE EXAMINATION FOR RESIDUES IN LIVE ANIMAL AND FRESH MEAT
IN PARAGUAY FOR THE YEAR 2005**

1	2	3	4	5	6	7
Group of substance	Compounds	Matrix	Laboratory method	L.D.L. ug/kg/l	Level of Action ug/kg/l	Number of samples
Mycotoxins	B1 G1 B2	Feedstuff	HPLC	5.54 0.36 0.38		20
Dyes						
Others						

赴巴拉圭技術協助

「動物產品品質檢驗與管制」之經驗分享

曾素香、周珮如

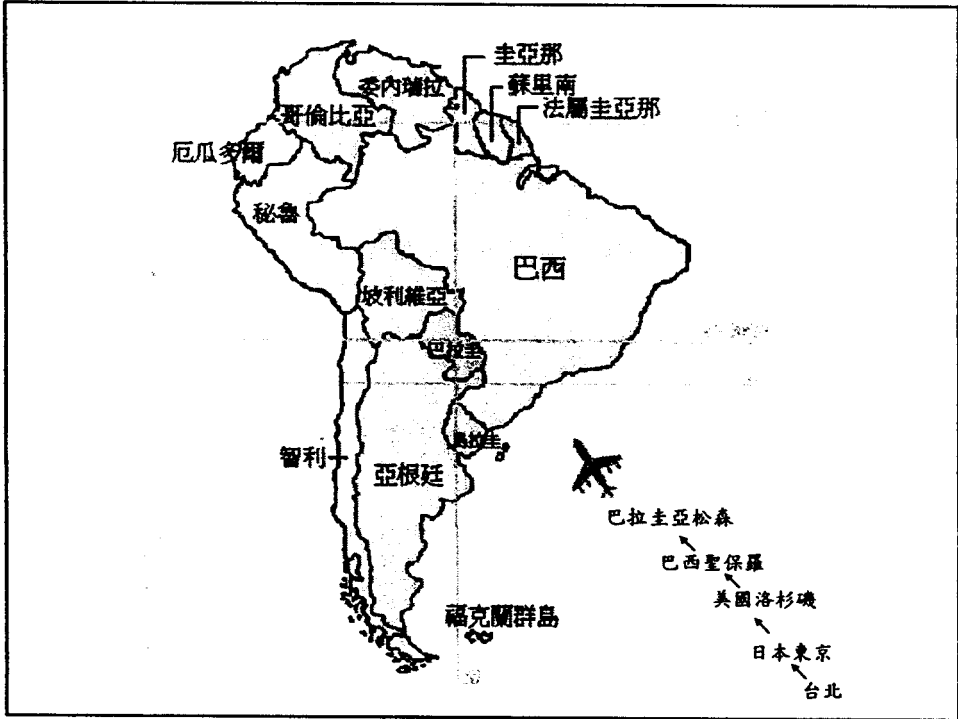
行政院衛生署藥物食品檢驗局

94年6月14日

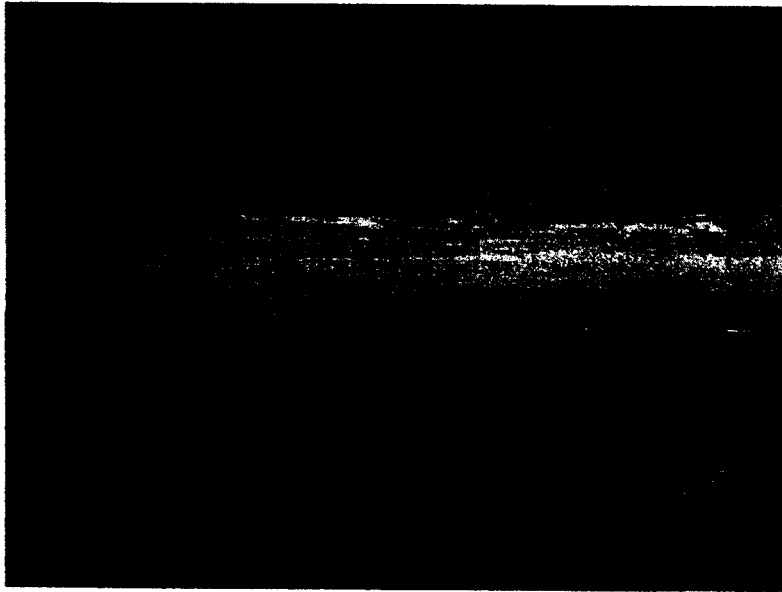
行前準備

- 出國計畫書 (powerpoint files, hardcopy)
- 辦理巴拉圭、美國簽證
- 電腦、光碟片、實驗器材、實驗衣
- 藥檢局簡報、中英文宣傳手冊
- 藥物食品分析期刊
- 禮品(包種茶、牛軋糖、point筆)





5/22 (日) 亞松森國際機場



**「協助巴拉圭動物產品品質檢驗與管制」
考察行程 (Topics)**

- **Evaluation on residues control laboratory and recommendations**
- **Analytical techniques to determine pesticides in food**
- **Calibrating methodology of analytical equipments**
- **Validation methodology of essays**
- **Experts's presentation about activities and installation in Taiwan's laboratories**

**「協助巴拉圭動物產品品質檢驗與管制」
考察行程表 (Topics) (續)**

- **Measuring techniques of uncertainty**
- **Presentation of documents related to quality systems in laboratories**
- **Making clear and accuracy on developed themes**

SOS



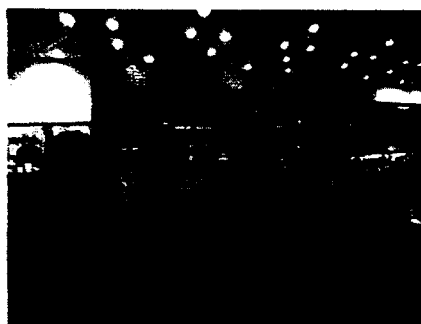
工作記要

5月23日(一)

(一) 拜會大使館林公使信行

(二) 參觀巴國動物衛生品管局(SENASCA)

檢驗室



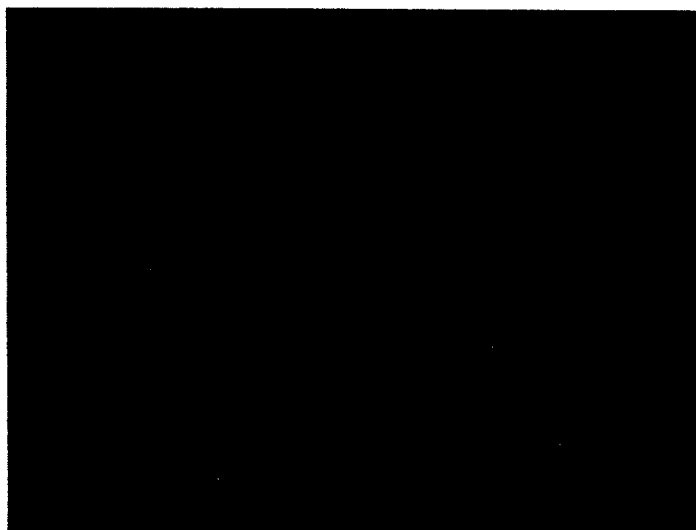
SENACSA



LRCL
(Livestock Residue Control Laboratory)



殘留管制實驗室成員

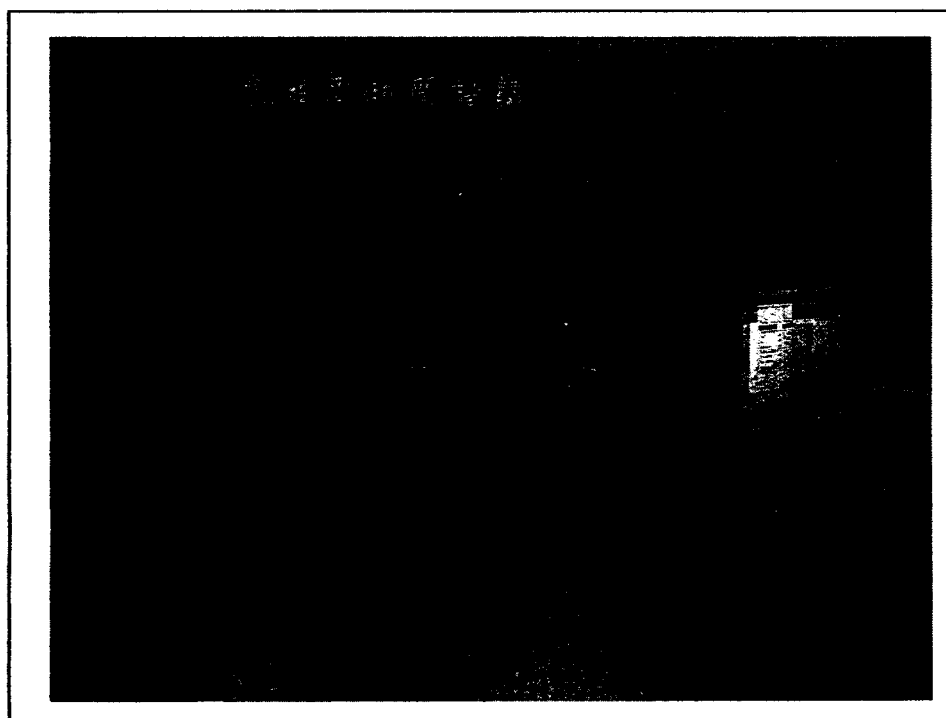
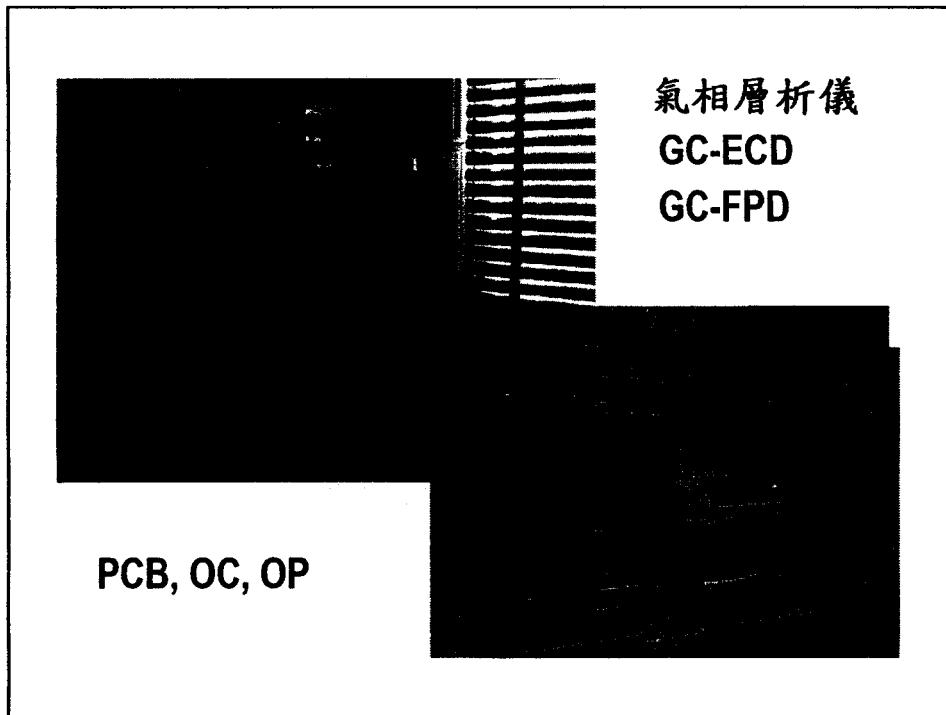


5月24日(二)

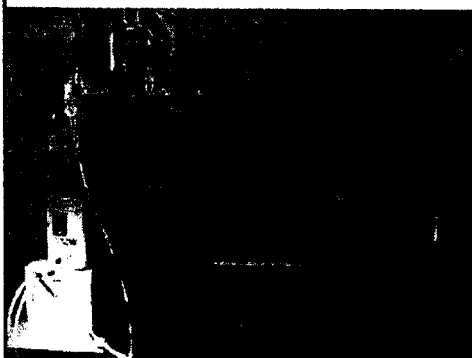
(一)評估殘留管制實驗室之儀器現況



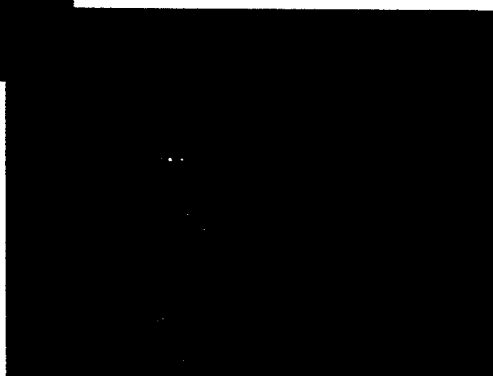
減壓濃縮
裝置



高效液相層析儀



Sulfadrugs



原子吸收光譜儀



放射性免疫分析儀



5月24日(二)

(二)綜合討論：分析儀器之校正方法



5月24日(二)

(三)實習課程：示範雞蛋中有機氯劑之多重
殘留分析—基質固相分布法
(matrix solid phase dispersion, MSPD)

參考中國國家標準CNS14835，開發出以MSPD
進行檢體前處理之分析技術。此法係將檢體與吸附
劑混合，充填入矽酸鎂固相萃取匣，再以丙酮和正
己烷混合溶液為沖提溶劑，可萃取出雞蛋中有機氯
劑並達去除雜質之效果，此方法簡單、快速並且僅
使用少量的有機溶劑，值得推廣。

MSPD analytical
procedure for
organochlorine
pesticide residues
in livestock products



Homogenized samples 0.5g in
glass or stainless mortar

Blend with 0.5g bondesil-envirelut bulk
sorbent

Add acetone: *n*-hexane (1:9, v:v) 2mL

Bondesil-envirelut/ sample matrix put
into Florisil cartridge (2 g, 20 mL)

Covered with frits

Wash with acetone: *n*-hexane (1:9, v:v) 18mL

Eluate

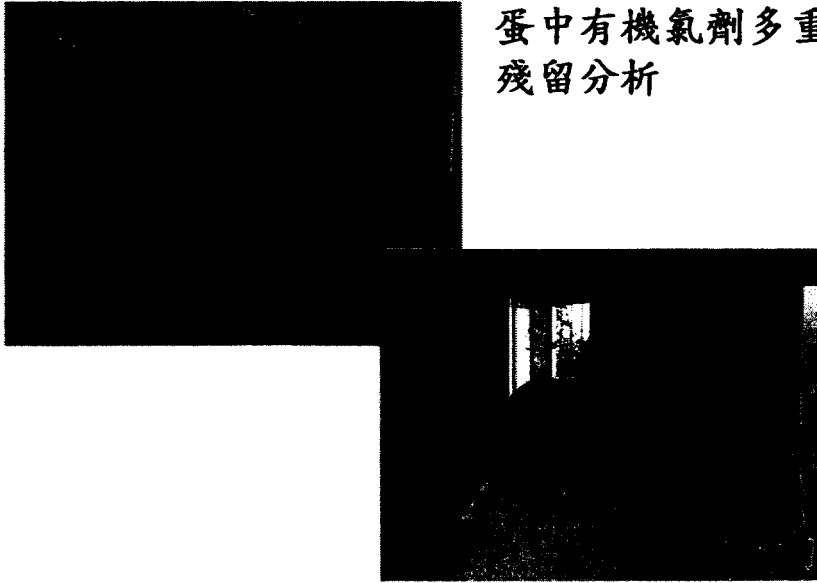
Evapor to dryness

Residue

Dissolve in *n*-hexane 2mL

GC/ECD or GC/MS/MS

蛋中有機氯劑多重
殘留分析



- A. 空白分析
- B. 外添加
100 ppb

解說計算
流程



5月25日(三) 專題演講

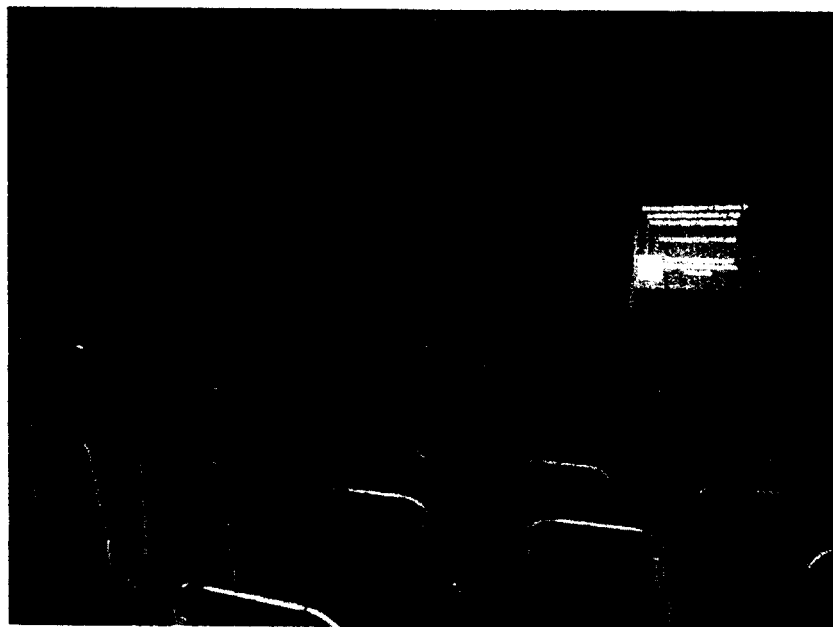
一、介紹本局開發之動物檢體中動物用藥及持久性污染物殘留分析法

(1)合成抗菌劑Quinolones類多重殘留分析法

(2)台灣地區蛋及肉品中有機氯劑殘留監測計畫

(3)動物用藥多重殘留檢驗方法

(4)台灣地區蛋及肉品中多氯聯苯殘留監測計畫

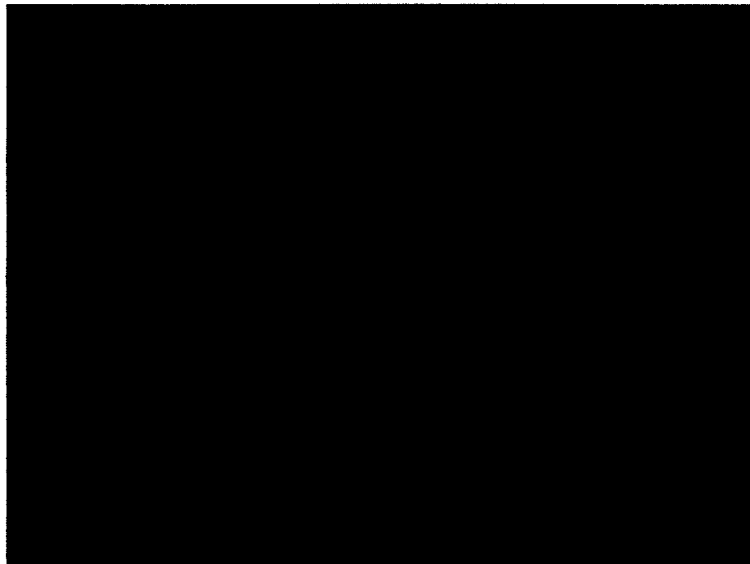


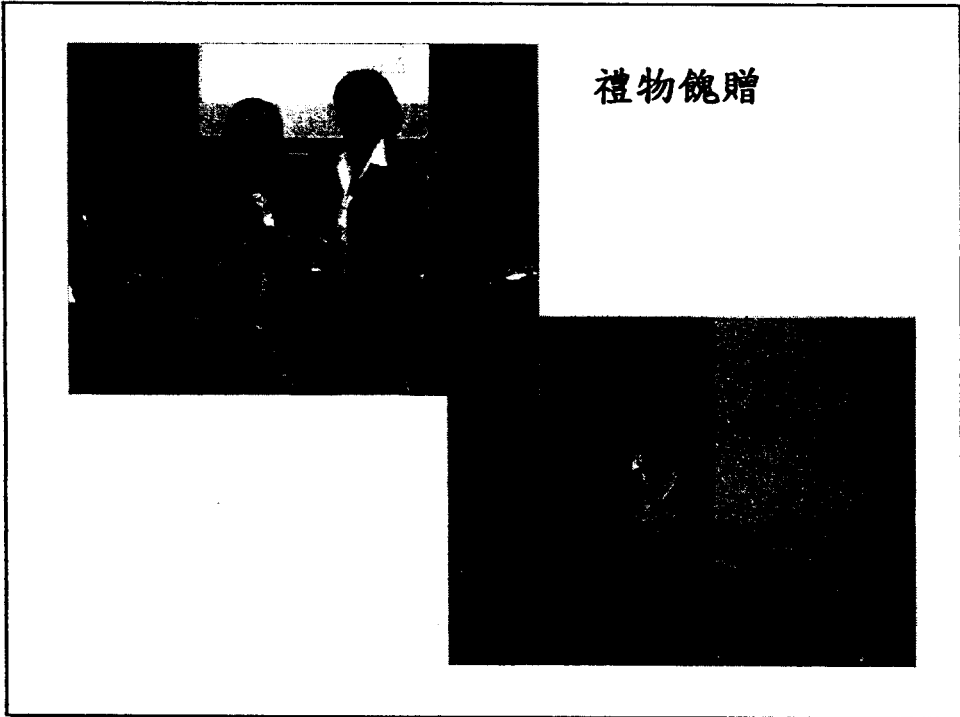
5月25日(三) 專題演講 (續)

二、行政院衛生署藥物食品檢驗局組織及
功能簡介及台灣相關法規及監測計畫

(1)行政院衛生署藥物食品檢驗局簡介

(2)台灣動物產品中農藥及動物用藥殘留標
準相關法規及藥物監測項目之介紹





5月26日(四)

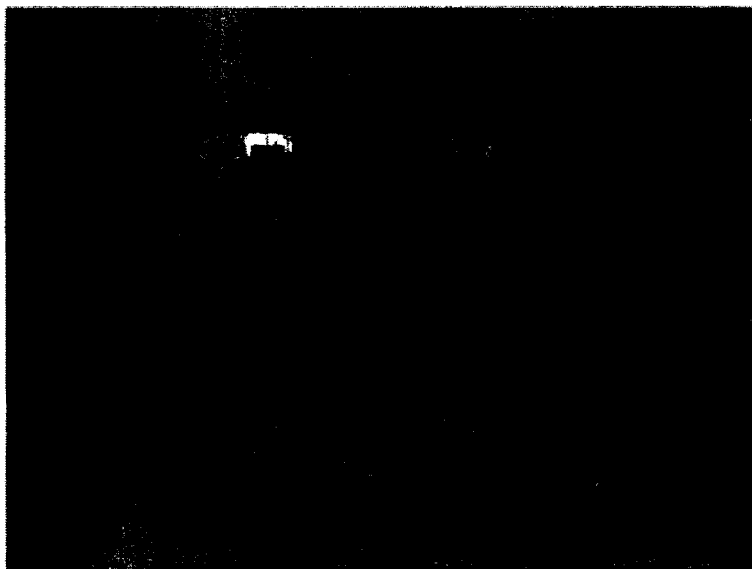
(一) 資料蒐集：蒐集相關資料以瞭解殘留
管制實驗室之組織架構及工作情況

(二) 課程

1. 方析方法之確效
2. 量測不確定度之測量技巧
3. 實驗室品質系統所需文件介紹

(三) 綜合討論：分析方法之LOD及LOQ

課程講解—量測不確定度





綜合討論：方法
之LOD及LOQ



對於巴國動物產品品質管制實
驗室增購儀器的建議

建議實施 實驗室需求

順序

- 1 添購氣相層析儀乙台 (附有二個檢出器, 可接二種不同之 column、附自動注射器及接收處理數據用之電腦相關配備)
- 2 修復廠牌為 SHIMADZU 之高效液相層析儀器(型號 LC10A 等九個單項)乙組及氣相層析儀譜儀(型號 GC-17A)乙台, 若無法修復則新設備
- 3 實驗室網路化、資訊化
- 4 添購 LC/MS/MS
- 5 添購氫氣產生機、空氣產生機及氮氣產生機

以上五項需求, 目前較迫切的項目為 1~3 項。



心得

- 巴拉圭具得天獨厚的畜牧環境，外銷肉品確實需要設備完善的實驗室進行檢測。
- 巴國SENACSA實驗室網路化設備及訓練課程缺乏，且儀器廠商維修能力及配合度差，急需改善。
- 此行拉近了兩國間實驗室的距離，未來將持續聯繫及協助解決問題，亦為國民外交盡一份心力。