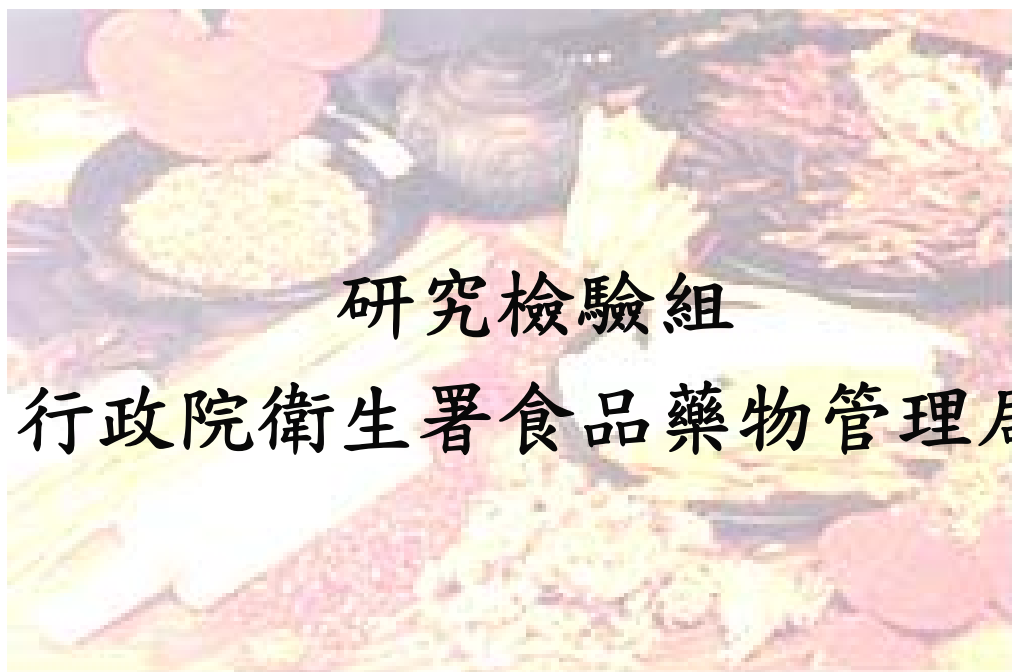


99年度中藥廠品管作業實務訓練



中藥農藥殘留檢驗方法建立 及應注意事項



研究檢驗組

行政院衛生署食品藥物管理局

藥事法

第 6 條

本法所稱藥品，係指左列各款之一之原料藥及製劑：

- 一、載於中華藥典或經中央衛生主管機關認定之其他各國藥典、公定之國家處方集，或各該補充典籍之藥品。
- 二、未載於前款，但使用於診斷、治療、減輕或預防人類疾病之藥品。
- 三、其他足以影響人類身體結構及生理機能之藥品。
- 四、用以配製前三款所列之藥品。

藥事法

第 21 條

本法所稱劣藥，係指核准之藥品經稽查或檢驗有左列情形之一者：

- 一、擅自添加非法定著色劑、防腐劑、香料、矯味劑及賦形劑者。
- 二、所含有效成分之質、量或強度，與核准不符者。
- 三、藥品中一部或全部含有污穢或異物者。
- 四、有顯明變色、混濁、沈澱、潮解或已腐化分解者
- 五、主治效能與核准不符者。
- 六、超過有效期間或保存期限者。
- 七、因儲藏過久或儲藏方法不當而變質者。
- 八、裝入有害物質所製成之容器或使用回收容器者。



行政院衛生署·中醫藥委員會



全文檢索: 請輸入搜尋項目

罕用字輸入

說明

> 電子報

> 委員會介紹區

> 中醫藥業務區

> 中藥藥品許可證查詢

> 研究發展區

> 資訊典籍區

> 法令規章區

> 中醫藥機關團體

> 醫藥知識區

> 本會出版品

> 本會公開資訊區

> 其他區

➤ PATH: [HOME](#) / [法令規章區](#) / [藥品查驗相關法令](#)

發布「中藥藥材污穢物質限量」解釋令

 友善列印

行政院衛生署 令

發文日期：中華民國95年11月10日

發文字號：署授藥字第0950003346號

附件：「中藥藥材污穢物質限量」附表

藥事法第二十一條第三款所稱「藥品中一部或全部含有污穢者」，於中藥藥材部分，係指該藥品含有附表內各類物質超出所訂限量者。

中藥藥材污穢物質限量 [[DOC 檔](#)]

中藥藥材污穢物質限量

物質名稱	限量	適用範圍	備註
總重金屬	30 ppm	甘草	表列之中藥藥材為藥事法第六條所規定之藥品
	20 ppm	石膏、龍骨、人參	
	20 ppm	沒藥	
DDT總量	1.0 ppm	人參、甘草、黃耆、番瀉葉	
BHC總量	0.9 ppm		
PCNB(Quintozene)	1.0 ppm		
黃麴毒素	15 ppb	八角茴香、紅棗、大腹皮、女貞子、小茴香、山楂、山茱萸、枸杞子、胡椒、麴類、延胡索、橘皮、黃耆、蓮子	

地龍等中藥藥材含污穢物質之限量

檔 號：

保存年限：

行政院衛生署 令

發文日期：中華民國98年7月22日

發文字號：署授藥字第0980001932號

附件：「地龍等中藥藥材含污穢物質之限量」附表



藥事法第21條第3款所稱「藥品中一部或全部含有污穢者」於中藥材部分，訂定「地龍等中藥藥材含污穢物質之限量」如附件，並自中華民國九十九年一月一日起生效。

附「地龍等中藥藥材含污穢物質之限量」



署長 葉金川

地龍等中藥藥材含污穢物質之限量

地龍等中藥藥材含污穢物質之限量 附表

污穢物質	限量 (ppm)	適用範圍	備考
總重金屬	30 以下	地龍、龜板膠、鹿角膠、阿膠	
	20 以下	白朮、玄明粉、澤瀉、龍骨	
	10 以下	芒硝、牡丹皮、龍膽、貝母、地骨皮、黃耆、黃芩、葛根、天花粉、懷牛膝、柴胡、桔梗、遠志、鬱金、延胡索、何首烏、菝葜、羌活、苦參、茯苓、山藥、升麻、川芎、桑白皮、知母、豬苓、天麻、天門冬、半夏、白芷、附子、茅根、防風、良薑、地黃、白芍、生薑、蒼朮、大黃、當歸、麥門冬	
	5 以下	冰片	
鉛	5 以下	金銀花、甘草、黃耆、丹參、白芍	
鎘	0.3 以下	金銀花、甘草、黃耆、丹參、白芍	

BHC 含量	0.2 以下	山茱萸、紫蘇葉、大棗、陳皮、枇杷葉、牡丹皮、遠志、細辛、肉桂、桂皮、桂枝	
DDT 含量	0.2 以下	山茱萸、紫蘇葉、大棗、陳皮、枇杷葉、牡丹皮、番瀉葉、遠志、細辛、肉桂、桂皮、桂枝	

	2 以下	鹿角膠、甘草、冰片、金銀花、石膏、黃耆、丹參、白芍、紅參、人參	
BHC 含量	0.2 以下	山茱萸、紫蘇葉、大棗、陳皮、枇杷葉、牡丹皮、遠志、細辛、肉桂、桂皮、桂枝	
DDT 含量	0.2 以下	山茱萸、紫蘇葉、大棗、陳皮、枇杷葉、牡丹皮、番瀉葉、遠志、細辛、肉桂、桂皮、桂枝	

食品使用之中藥材

- 中醫藥委員會公告「同時可供為食品使用之中藥材」→供食品使用者，應符合食品衛生管理規範。
- 若未對食品使用之中藥材訂定農藥安全容許量標準，則任何農藥均不得檢出。
- 中藥藥材含污穢物質之限量中所列之農藥為公告禁止使用之農藥，依法不得檢出。

中醫藥委員會公告「同時可供為食品使用之中藥材」

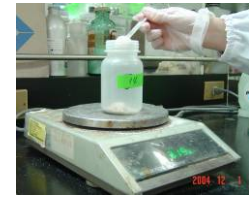
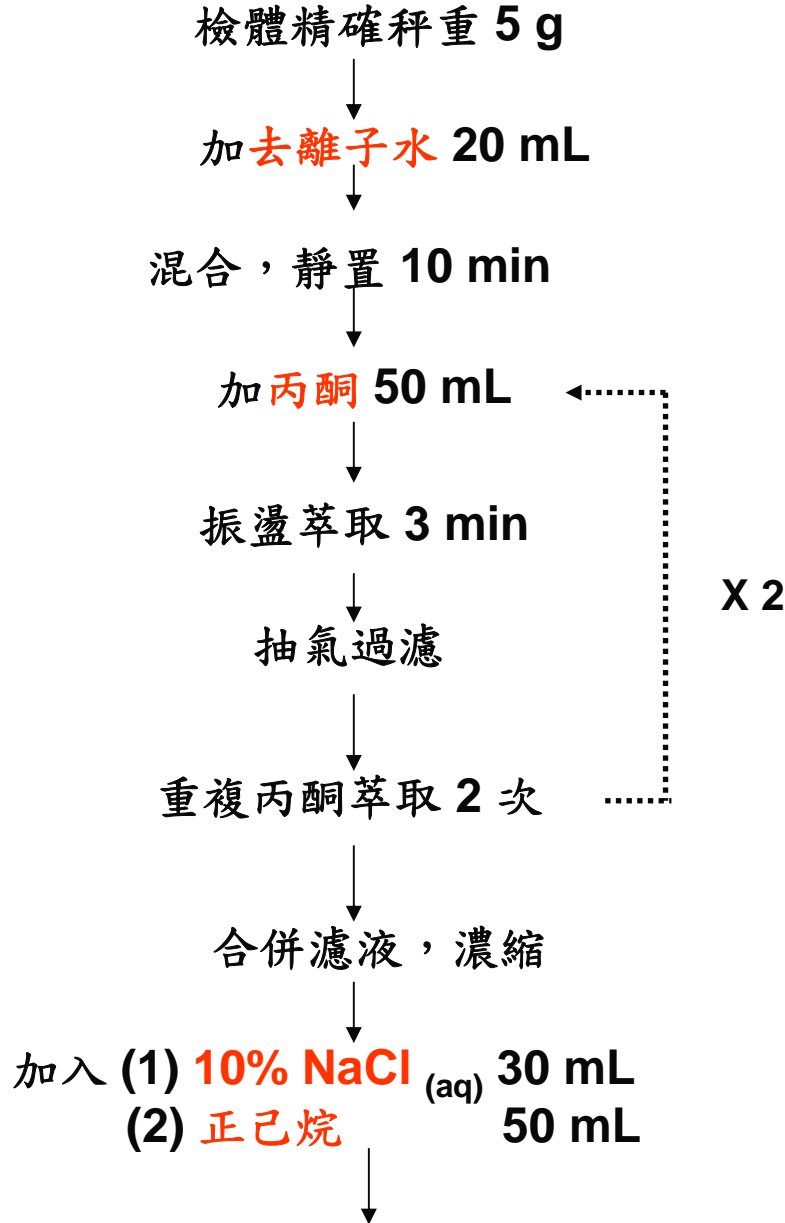
- 中華民國八十九年七月十五日衛署中會089040199號公告12項：大豆、百合、芝麻、松子、胡桃、淡菜、荷葉、菊花、黑棗、綠豆、銀耳、龍眼肉。
- 中華民國九十二年八月七日署授藥字第0920001534號公告9項：山藥、牡蠣（殼）、橄欖、麥芽、生薑、蜂蜜、萵苣、昆布、枸杞子。
- 中華民國九十三年二月十日署授藥字第0930000545號公告161項：
蔬菜類：韭，蔥，薤，葫，龍鬚菜等42種。水果類：李，梅，桃，栗，棗，梨，山楂等36種。
- 中華民國九十五年三月二十四日署授藥字第0950000895號公告21項：蓮藕、蓮子、杏脯（果）、柿、黃精等21種品項。
- 中華民國九十七年增列：決明子，陳皮，肉豆蔻等9項。

農藥殘留分析之前處理技術

- **LLE (liquid-liquid extraction)**
- **SPE (solid-phase extraction)**
- **SPME (solid-phase microextraction)**
- **SFE (supercritical fluid extraction)**
- **GPC (gel permeation chromatography)**
- **d-SPE (dispersion SPE)**

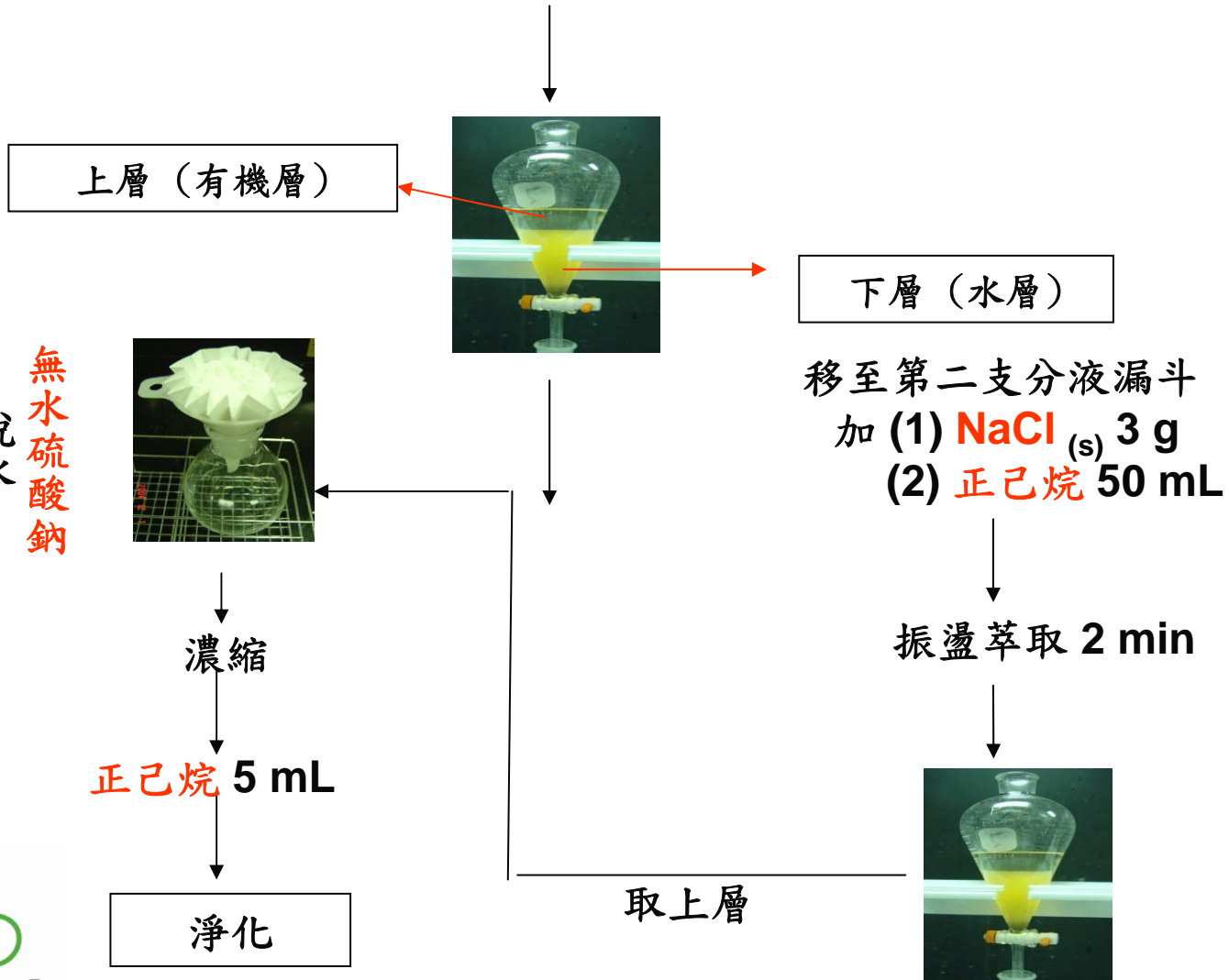
中藥材殘留有機氣劑之檢驗

萃取



中藥材殘留有機氣劑之檢驗(1)

移至分液漏斗
振盪萃取 2 min，靜置分層



淨化

以正己烷 5 mL 潤洗矽酸鎂固相萃取匣

↓
注入待淨化之樣品溶液

↓
以正己烷沖提三次，每次 5 mL

↓
以濃縮瓶收集沖提液

↓
減壓濃縮

↓
以正己烷定容至 5 mL

↓
檢液

↓
GC/ECD or GC/MS (MS)

$$\text{檢體中有機氯劑含量 (ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中農藥之
濃度 (ppm)

V：檢體最後定容之體積 (mL)

M：取樣分析檢體之重量 (g)



中藥材殘留有機氯劑之檢驗(2)

檢體 2克

- 1.加水18mL，混合後靜置20min
- 2.加含1%醋酸乙腈溶劑60mL，振搖萃取3分鐘
- 3.過濾
- 4.以1%醋酸乙腈溶劑20 mL洗容器及殘渣，合併濾液

濾液40°C以下減壓濃縮至無有機溶媒

- 1.加入20%氯化鈉溶液2mL於濃縮液
- 2.將濃縮液通入液/液萃取匣，靜置10分鐘
- 3.以正己烷80 mL分次溶洗濃縮瓶，洗液注入液/液萃取匣

收集沖提液

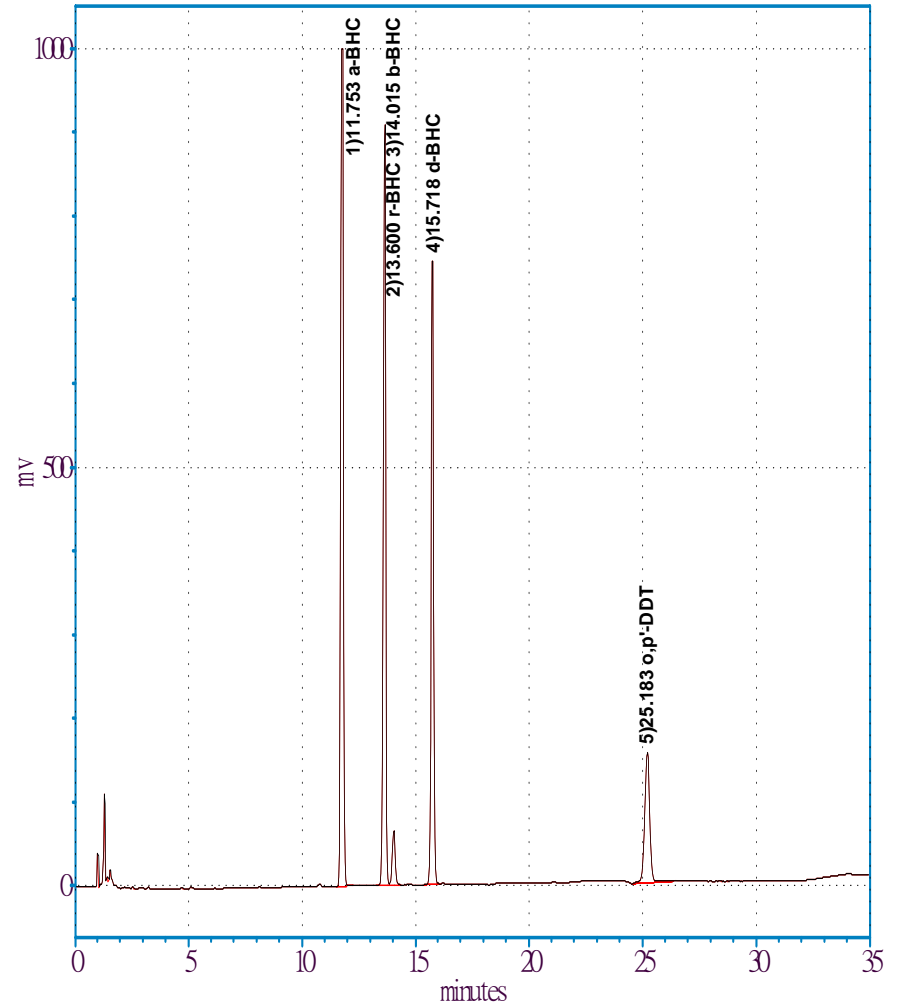
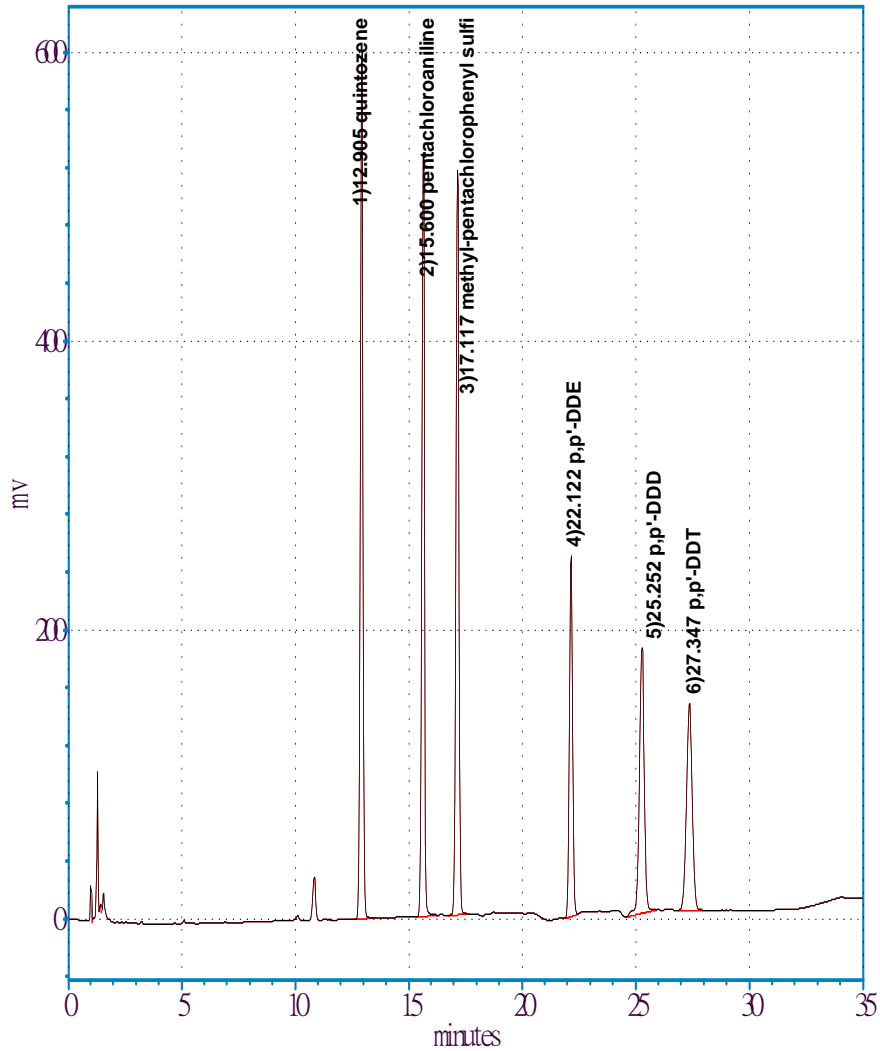
1. 40°C以下減壓濃縮至乾
- 2.殘留物以2 mL正己烷溶解
3. 注入預以正己烷10 mL潤濕之矽酸鎂固相萃取匣
- 4.以正己烷20 mL沖提
5. 40°C以下減壓濃縮至乾，殘留物以正己烷溶解並定容至2 mL



GC-ECD 儀器參數

- 檢測器：ECD
- 層析管柱：DB-608 (ID 0.83 μ m, 0.53 mm \times 30 m)
- 層析管溫度：
 - 初溫：150°C，2 min，溫度上升速率：4°C/min
 - 中溫：230°C，10 min，溫度上升速率：10°C/min
 - 終溫：250°C，18 min
- 檢出器溫度：300°C
- 注入器溫度：250°C
- 注射體積：1 μ L

GC-ECD 層析圖譜



檢驗結果確認

➤ 定性確認：

更換不同極性層析管柱 (GC/ECD)

氣相層析質譜分析

--全質譜掃描(full scan)

--選擇離子偵測模式(SIM)

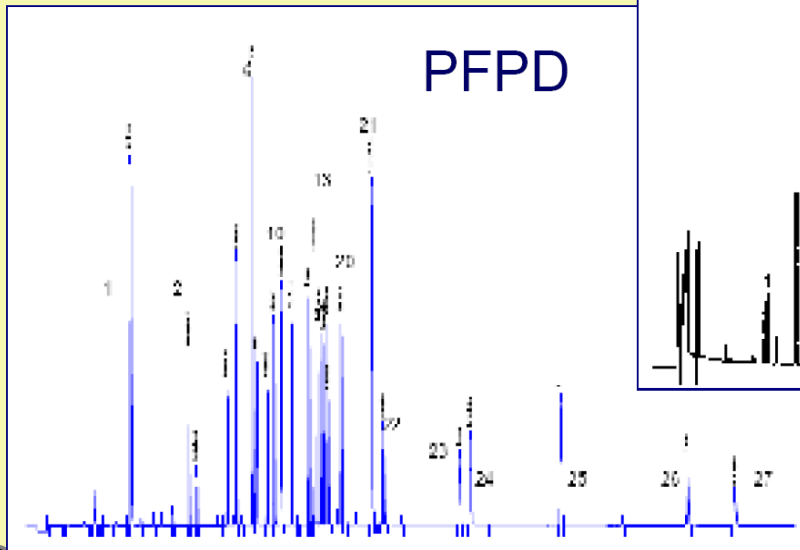
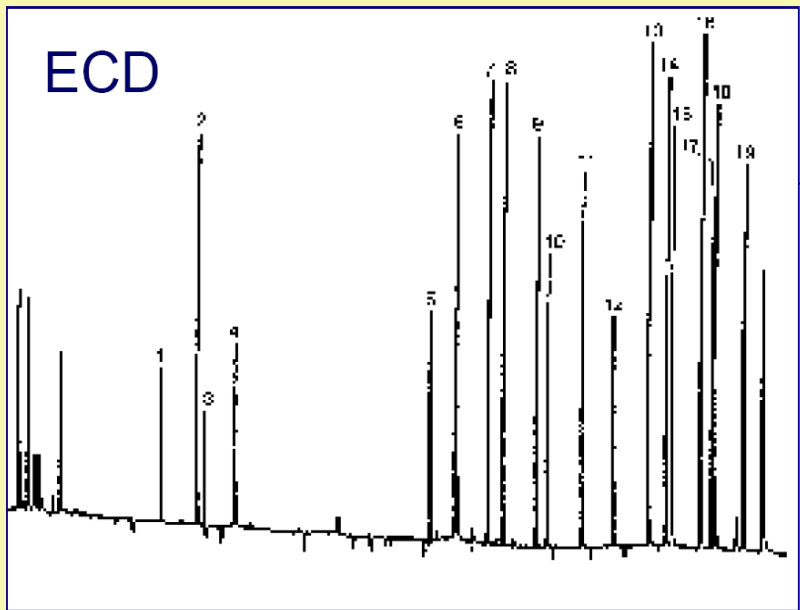
--多重反應偵測模式(MRM)

➤ 定量確認：

--標準溶液之有效性

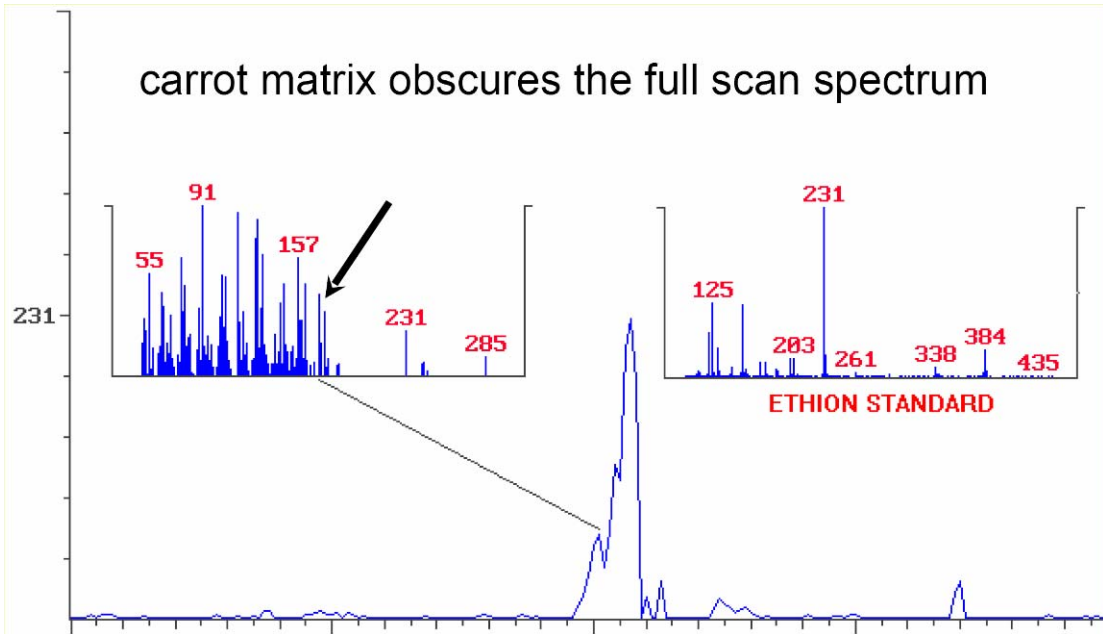
--基質效應對定量之影響

氣相層析法之確認

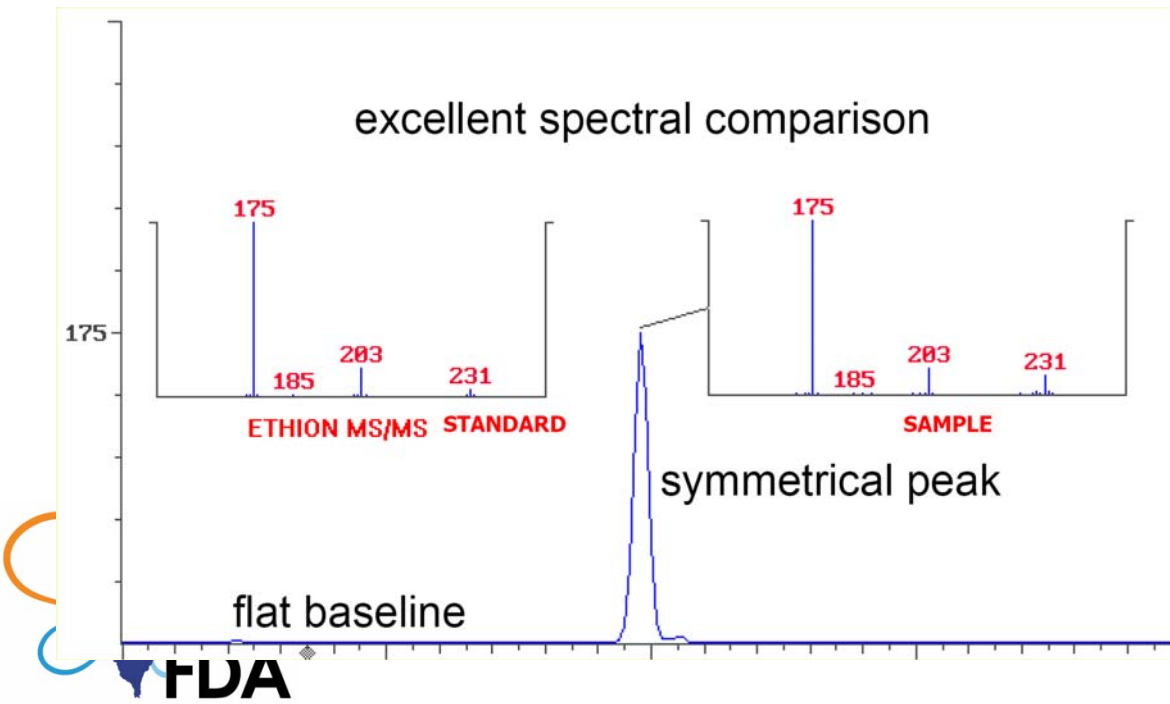


更換不同極性之層析管柱
或以GC/MS等進行確認

GC/MS



GC/MS/MS



GC/MS/MS 儀器參數

- 層析管柱: Varian VF-5 Pesticides FS (ID 0.25 μ m, 30 m \times 0.25 mm)
- 注射體積: 1 μ L
- 注入器溫度: 280°C
- 層析管溫度:
初溫: 100°C, 2 min, 溫度上升速率: 8°C/min
終溫: 300°C, 5 min
- 離子源溫度: 250°C
- Transfer line temp.: 280°C
- 離子模式: EI, 70 eV
- 碰撞氣體壓力: 1.5mTorr

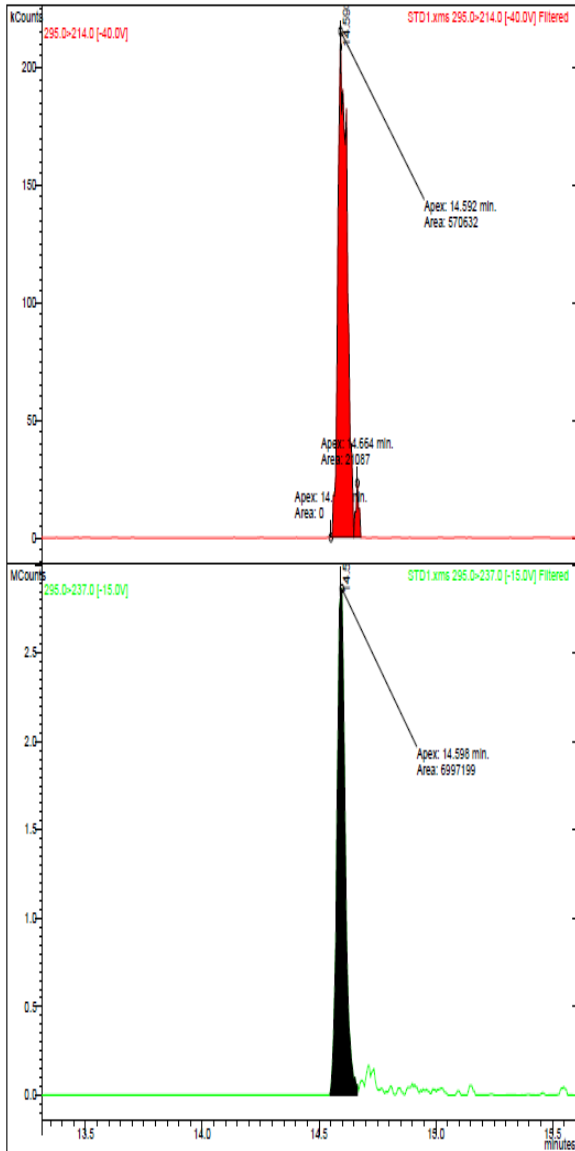


11種農藥之多重反應偵測模式參數

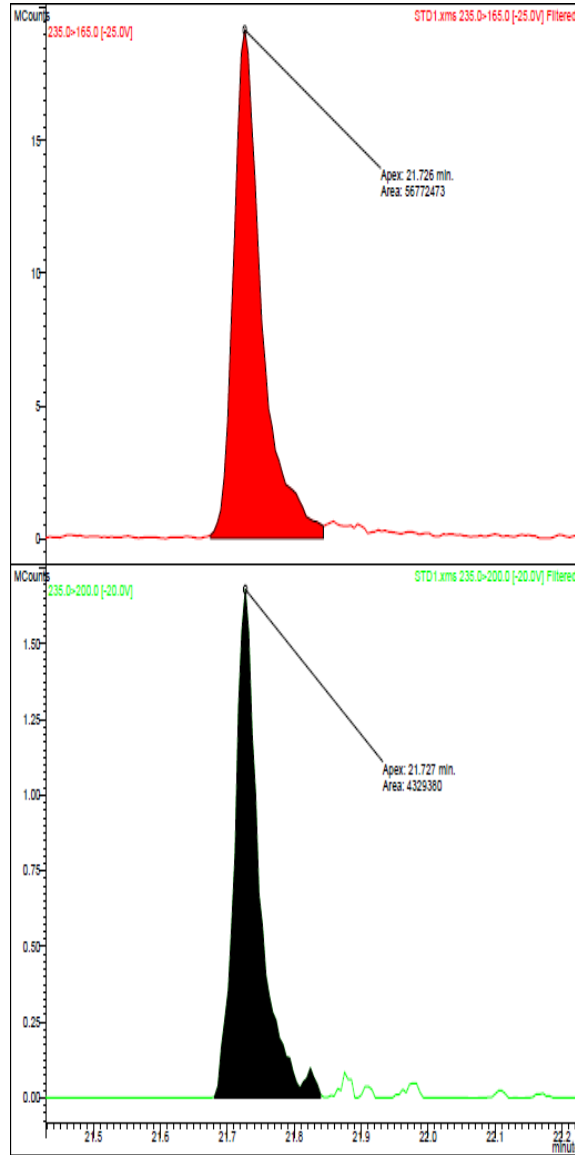
農藥名稱	MRM transitions, m/z (collision energy, ev)	
	定量離子	定性離子
Quintozene	295>214 (40)	295>237 (15)
Pentachloroaniline	265>158 (35)	265>167 (35)
Methyl-pentachlorophenyl sulfide	296>246 (35)	296>281 (25)
p,p'-DDE	246>176 (25)	246>211 (25)
p,p'-DDD	235>165 (20)	235>199 (15)
p,p'-DDT	235>165 (25)	235>200 (20)
o,p'-DDT	235>165 (20)	235>200 (10)
α -BHC	181>145 (25)	181>109 (25)
β -BHC	181>145 (25)	181>109 (25)
γ -BHC	181>145 (25)	181>109 (25)
δ -BHC	181>145 (25)	181>109 (25)

GC/MS/MS 圖譜

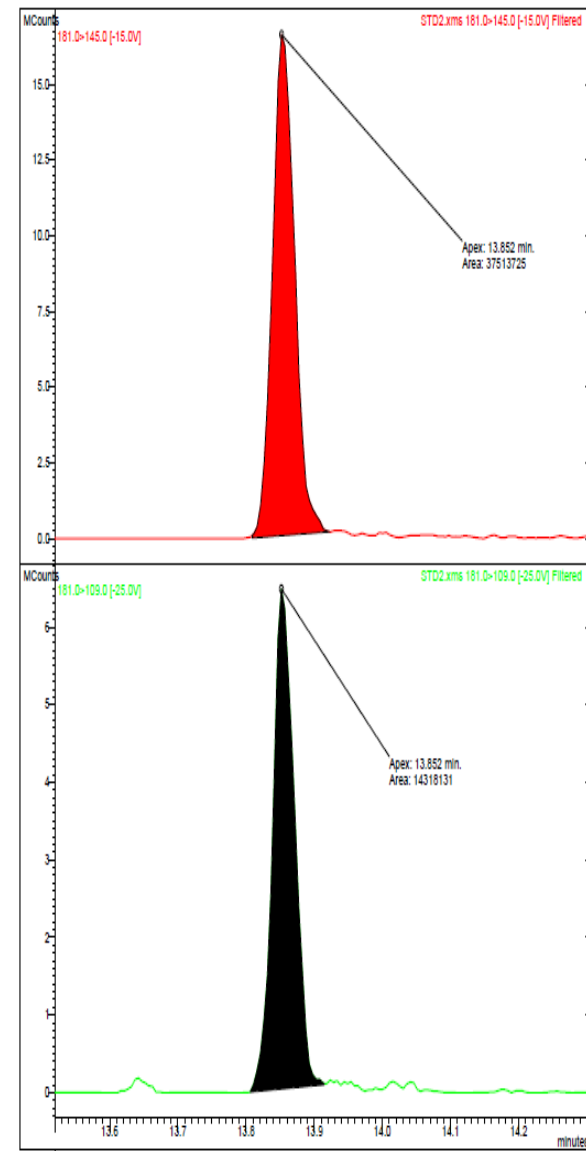
Quintozene



p,p'-DDT



α -BHC



2005年8月24日署授食字第0949424750號公告訂定
2009年7月29日署授食字第0981800273號公告修正

食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析方法（三）

Draft Method of Test for Pesticide Residues in Foods- Multiresidue Analysis (3)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於蔬菜、水果、穀類、乾豆類、茶類及食用花卉等食品中114項農藥多重殘留分析。
2. 檢驗方法：氣相層析法（gas chromatography, GC）。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 氣相層析儀：
 - 2.1.1.1. 檢出器：
 - 2.1.1.1.1. 電子捕獲檢出器（electron capture detector, ECD）。
 - 2.1.1.1.2. 火焰光度檢出器（flame photometric detector, FPD）
，附有波長526 nm之磷選擇性濾光鏡。



2008年9月3日署授食字第0971800329號公告訂定
2010年4月26日署授食字第0991900925號公告修正

食品中殘留農藥檢驗方法—多重殘留分析方法（四）

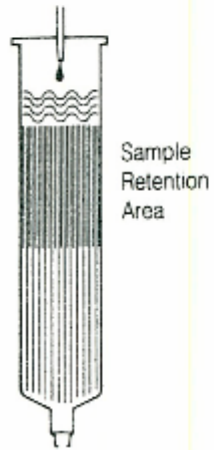
Draft Method of Test for Pesticide Residues in Foods- Method for Multiresidue Analysis (4)

- 1.適用範圍：本檢驗方法適用於**蔬菜、水果、穀類、乾豆類、茶類及食用花卉等食品中87項農藥多重殘留分析**。
- 2.檢驗方法：液相層析串聯質譜法（liquid chromatography/tandem mass spectrometry, **LC/MS/MS**）。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜分析儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化（electrospray ionization, ESI）。



Liquid/Liquid Extraction Cartridge Macroporous Diatomaceous Earth (MDE)

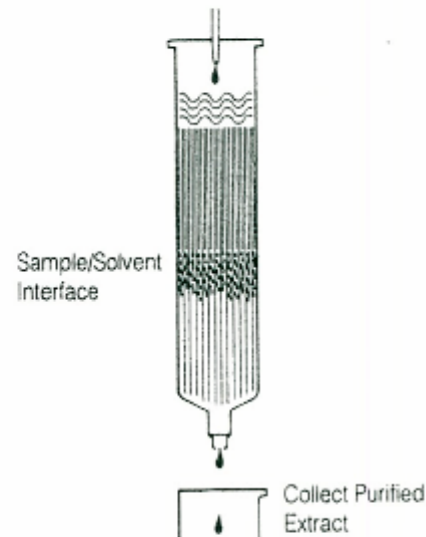
Step 1
Apply aqueous sample



Step 2
Wait 3 – 5 minutes



Step 3
Add organic extraction solvent



Varian Chem Elut

How to use Extube columns



Liquid/Liquid Extraction Cartridge Macroporous Diatomaceous Earth (MDE)



Advantages:

- *Simple device
- *Simultaneous processing multiple samples
- *Avoid emulsion
- *Skip the dehydration procedure

Homogenized sample 18 g (vegetables and fruits)

1. Extraction with 70 mL acetone for 3 min
2. Washing the pellet and container with 30 mL Acetone
3. Vacuum filtration

Filtrate

- Vacuum Evaporation to no organic solvent
Add 2 mL of 20 % NaCl soln.

MDE column

- Elution with 80 mL ethyl acetate

Eluate

- Vacuum evaporation to dryness
Reconstitution with acetone and make up to 5 mL

Test solution (I) → GC

GC/FPD (51 pesticides)

Total 201 pesticides/metabolites

1 mL

Florisil cleanup

- Elution with 30% A/H solution
20 mL

Test solution (II)

GC-ECD (63 pesticides/metabolites)

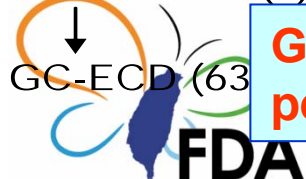
GC/ECD (63 pesticides/metabolites)

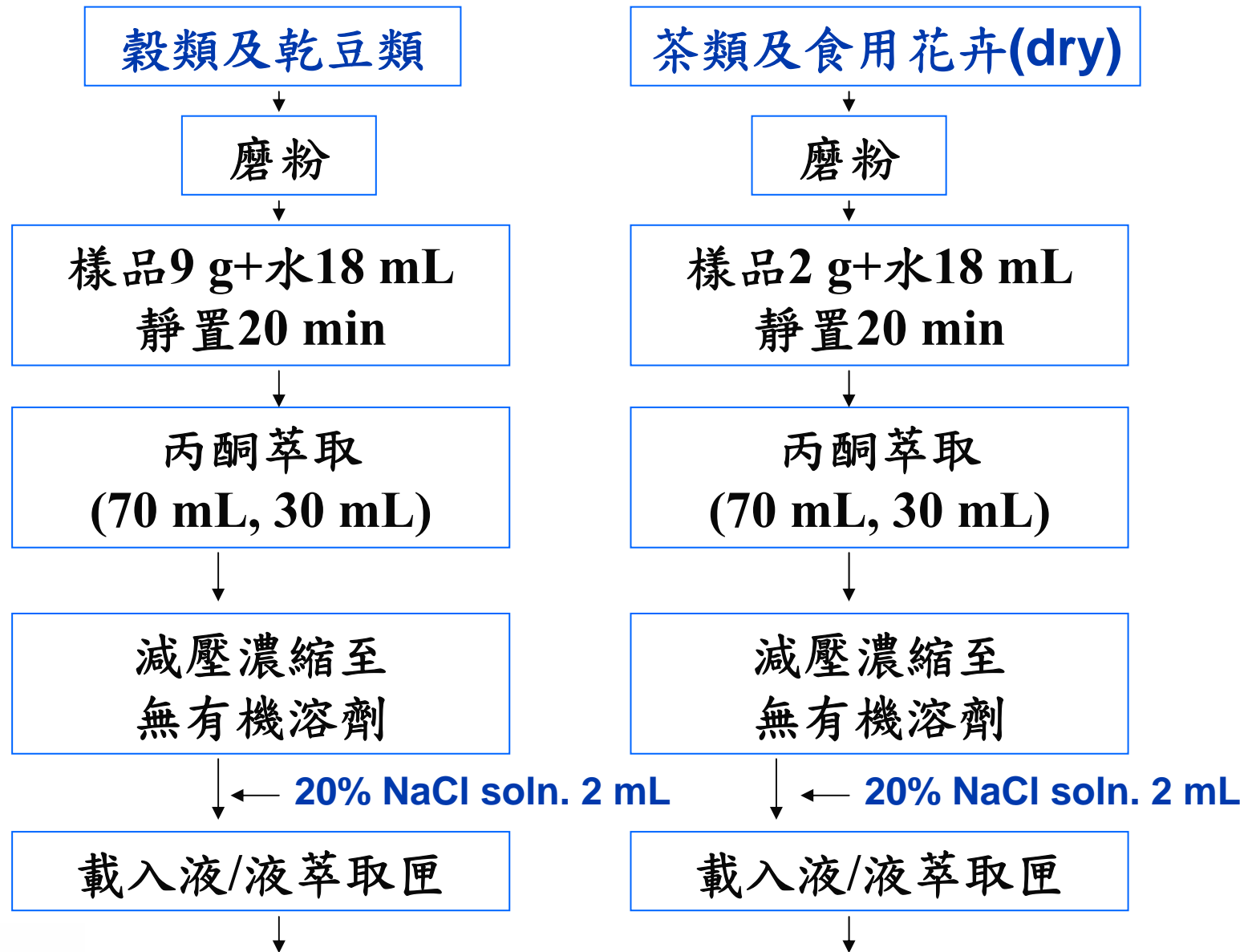
Reconstitution in methanol

Test solution (III)

LC/MS/M

LC/MS/MS (87 pesticides/metabolites)





同蔬果檢體流程

同蔬果檢體流程



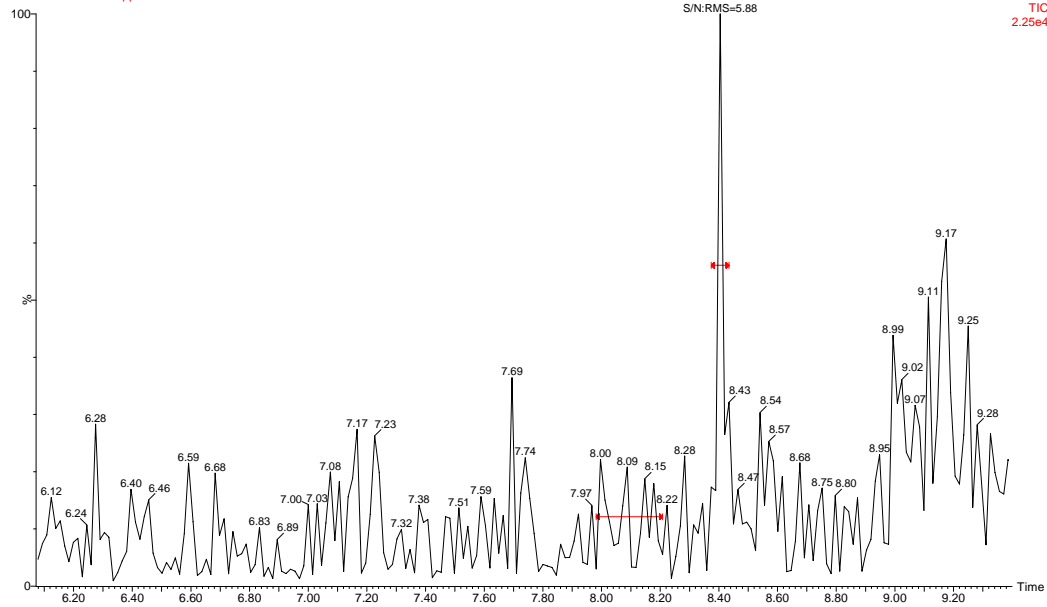
行政院衛生署食品藥物管理局
實驗室品質管理規範－測試結果之品質管制

核定日期: 99.01.19

三、檢出限量

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

971030 Q-47 VSP 25ppb

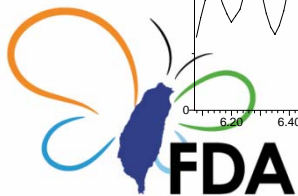


(Signal/Noise)
S/N > 10

971030 Q-47 VSP 25ppb Sm (Mn, 2x2)



Peak area=426



方法檢出限量

- 方法檢出限量是指在使用該方法時，檢體中分析物可被定量測出的最低量，而且測定結果應具有適當的準確度與精密度。

Quality Control (QC) Standards (Pesticides) (SANCO/10684/2009)

- In order to assure the correct execution of the whole procedure for each individual sample and the correct injection of each final sample extract in the GC- or LC-system, the use of one or more **QC standards**, is recommended.

行政院衛生署食品藥物管理局
實驗室品質管理規範－測試結果之品質管制

核定日期: 99.01.19

一、品管樣品分析及品管圖之製作

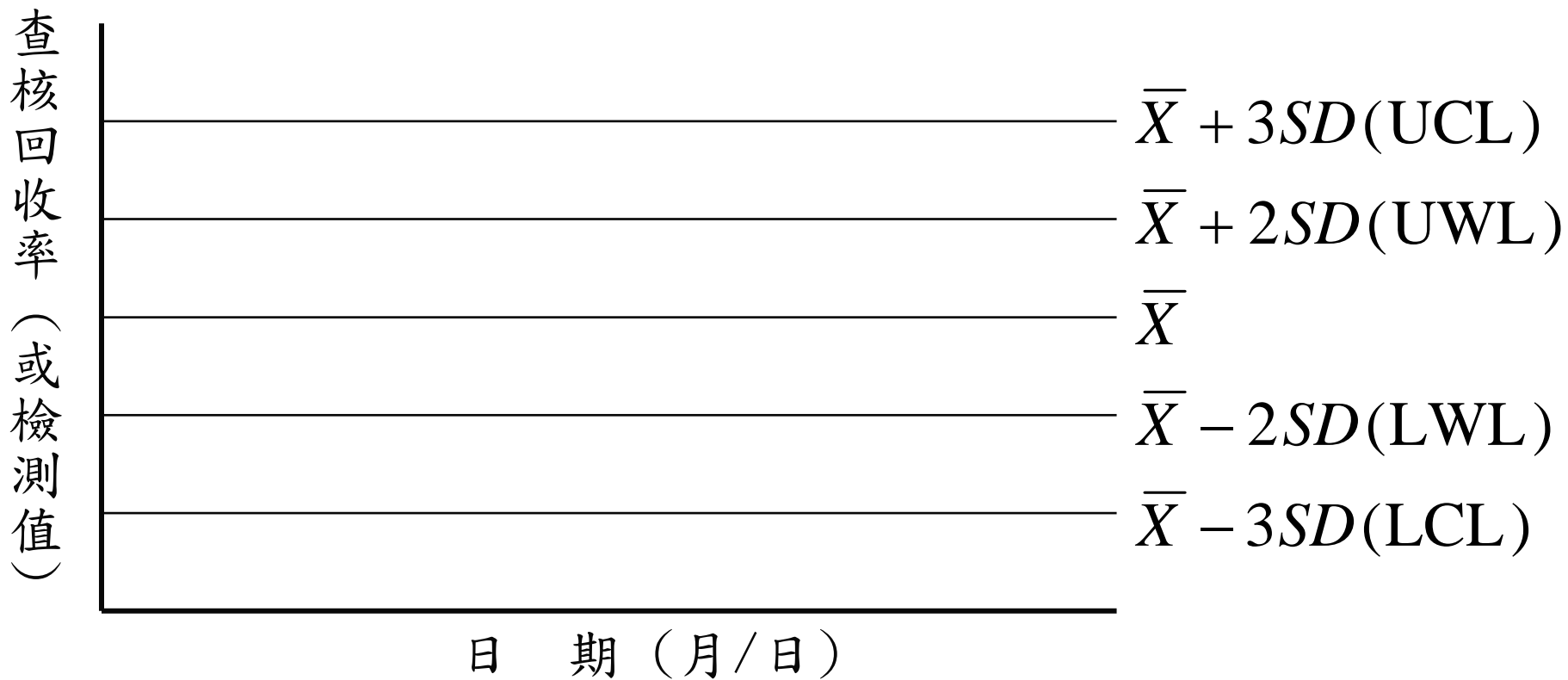
- 1.每批次(少於 20 個樣品)或每 20 個樣品至少做 1 次品管樣品分析。
- 2.每次品管樣品分析包括空白、重複、查核樣品及基質添加之分析，其中查核樣品及基質添加得擇一分析。品管樣品分析應依所採用之檢驗方法步驟，與待測樣品同時實施檢驗分析。

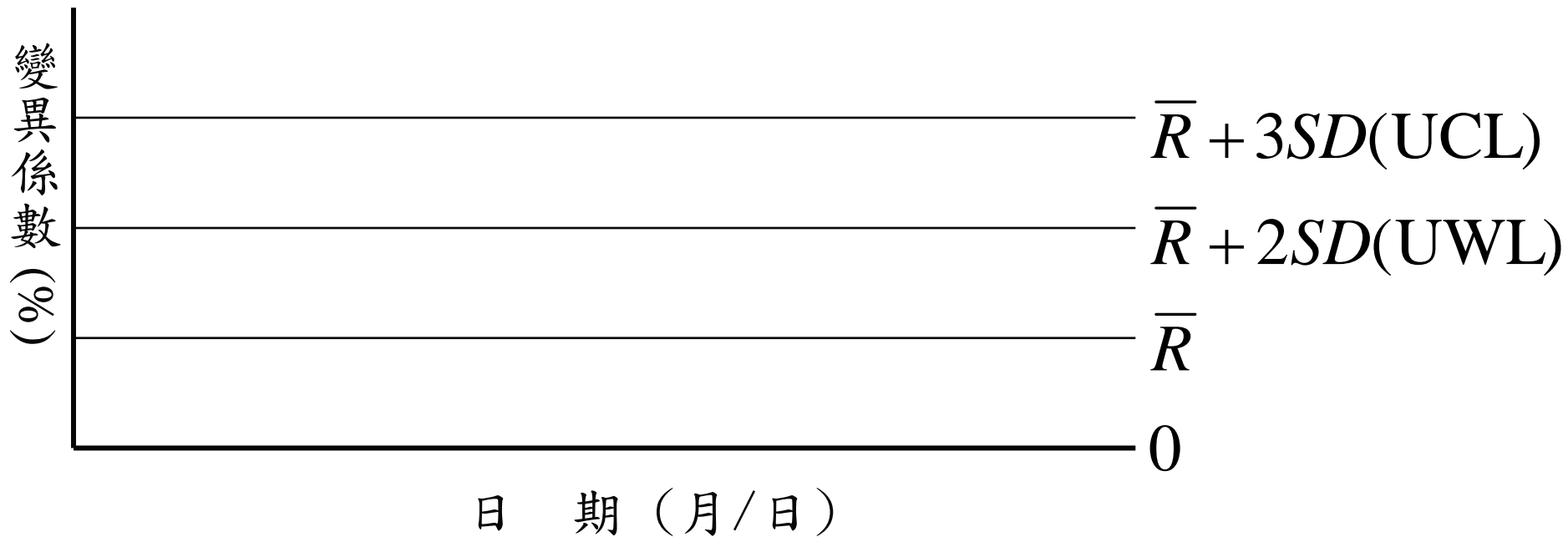
檢驗結果之品質管制

- 標準曲線製備
- 標準曲線確認
- 分析品管作業
 - 空白分析
 - 重複分析
 - 品管查核物質分析
 - 添加分析
- 管制圖之研判

品管圖之製作

- 未建立品管圖前，可參考方法文獻或實驗室經驗值等作為初始管制界限
- 累積15次品管樣品分析之計算值(剔除超過管制界限者)，計算其平均值(X)及標準偏差(SD)
 - 警告界限: $X \pm 2SD$ 或 $X + 2SD$ (重複分析)
 - 管制界限: $X \pm 3SD$ 或 $X + 3SD$ (重複分析)





管制圖之研判

- 利用建立完成之管制圖，將分析數據填入圖中，觀察是否有下述情形，並做適當之處置：
 - (1) 分析值超過管制上下限時，應立即重新分析，如重新分析未超過管制界限時，則繼續分析。反之，則停止分析，檢討原因，並執行矯正措施，同時應將矯正措施報告表之編號附註於管制圖上，以利追溯。

- (2) 連續二次分析超出警告界限時，立即重新分析，如未超出警告界限時，則繼續分析。反之，即停止檢測，並解決問題。
- (3) 為確保檢驗品質，實驗室每季至少需執行 3 次品管樣品分析，每年至少累計執行 15 次品管樣品分析，並應每年重新檢討製作品管圖一次。

Acceptability of analytical performance for routine recoveries (SANCO, 2009)

- A generalized range of 60-140% may be used in routine multi residue analysis.
- Recoveries outside the above mentioned range require re-analysis at the batch but may be acceptable in certain justified cases.



分析方法確效作業 指導手冊

行政院衛生署
中華民國八十九年六月



食品化學檢驗方法確效原則（草案）

1. **專一性**：專一性是指當可能存在之成分存在時，能明確的評估標的分析物的能力。
2. **範圍**：分析方法的範圍是指在使用該方法分析檢體中分析物，以濃度（量）上限與下線之間距時，其分析結果具有適當的準確度、精密度及線性關係。
3. **精密度**
4. **準確度**
5. **方法檢出限量**

檢驗方法之分類及要求

- 篩檢方法(Screening method)
- 定量方法(Quantitative method)：
 - 準確度(Accuracy)--回收率、標準參考物質(Certified Reference Material, CRM)
 - 精密度(Precision)--重複性
 - 定量極限—LOQ (limit of quantification)
- 確認方法(Confirmatory method)：
 - 鑑別點數 (Identification point)
 - 離子強度比之容許範圍(Ion ratio tolerance)
 - 確認極限—LOC (limit of confirmation)

檢驗方法確效（國際規範文件）-1

- **SANCO/10684/2009 (EU)**
Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed
- **CONSLEG:2002D0657-10/01/2004 (EU)**
Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and Interpretation of Results
- **Report of the Eighteenth Session of the Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods**



檢驗方法確效（國際規範文件）-2

- 日本食品中殘留農藥等檢驗方法之確效指引
- GB/T 27404-2008 (大陸)
實驗室質量控制規範 食品理化檢測
- AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation for Chemical Methods for Dietary supplements and Botanicals

Method Validation (How?)

- Applicability (Scope)
- Specificity (Selectivity)
- Calibration
- Accuracy (Recovery)
- Precision
(Repeatability, Reproducibility)
- Limit of Determination



實驗設計

代表性檢體



Calibration (External std method, Internal std method, standard addition, matrix-matched method)

空白試驗

回收率

重覆性

方法
檢出限量

n=5

方法確效 (method validation)



Specificity (Selectivity)

- Sample blank
Interference $< 1/2$ MDL (Minimum Requirement)
- Chromatography System
Resolution (R_s) \uparrow
TLC \rightarrow HPLC, GC \rightarrow UPLC, fast GC
- Detector type
GC/FID; GC/ECD; GC/FPD; GC/MS; GC/MS/MS;
LC/TOF; LC/Orbitrap



Chromatographic separation

- The relative retention time of the analyte shall correspond to that of the calibration solution at a tolerance of $\pm 0.5\%$ for GC and $\pm 2.5\%$ for LC.

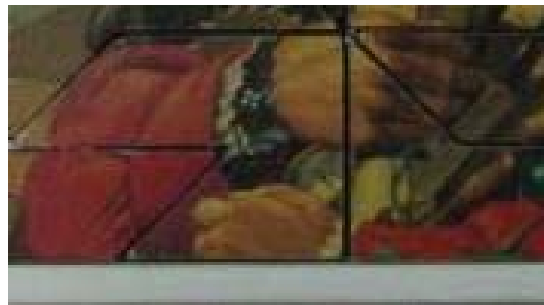
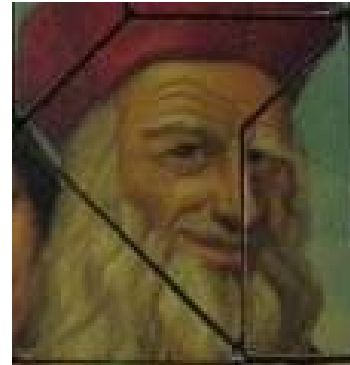


全離子掃描(Full scan)結果



多重反應監測模式(MRM)結果—2 mass transitions

???



Relationship between mass fragment classes & IPs: Selected Ion Monitoring

MS Technique	IPs earned per ion
Low resolution (LR) MS	1.0
LR-MS ⁿ Precursor ion	1.0
LR-MS ⁿ Transition products	1.5
High resolution (HR) MS	2.0



Earning Identification Points (IPs)

Technique(s)	Number of ions	IPs
GC-MS (EI or CI) or LC-MS	4	4
LC-MS/MS	1 precursor & 2 products	4
High resolution MS	2	4



Maximum permitted tolerances for relative ion intensities (sample compared to standard) using various mass spectrometric analytical techniques

(EU, Codex)

Relative ion intensity (% of base peak)	GC-MS (EI) (relative)	GC-MS (CI), GC-MS/MS LC-MS, LC-MS/MS (relative)
> 50%	±10%	± 20%
> 20% to 50%	± 15%	± 25%
> 10% to 20%	± 20%	± 30%
≤ 10%	± 50%	± 50%



LC/MS/MS Determination

Propoxur

#	Name	Ion Ratio
1	980907 81 mix 500-1	0.392
2	980907 81 mix 200-1	0.411
3	980907 81 mix 100-1	0.407
4	980907 81 mix 50-1	0.356
5	980907 81 mix 25-1	0.342
6	980907 81 mix 10-1	0.383

Ion Ratio
平均0.382

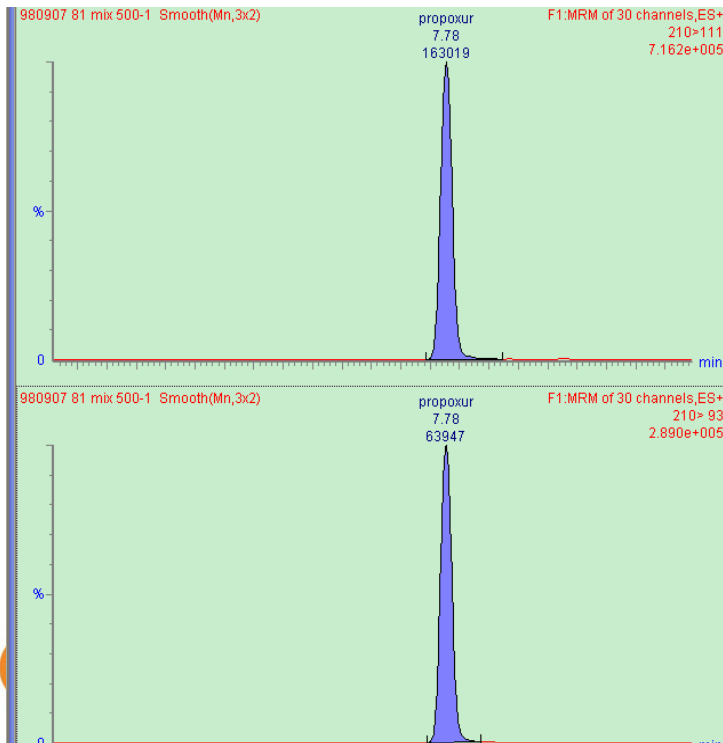
+ / - (%)

tolerance ion ratio

25

0.29

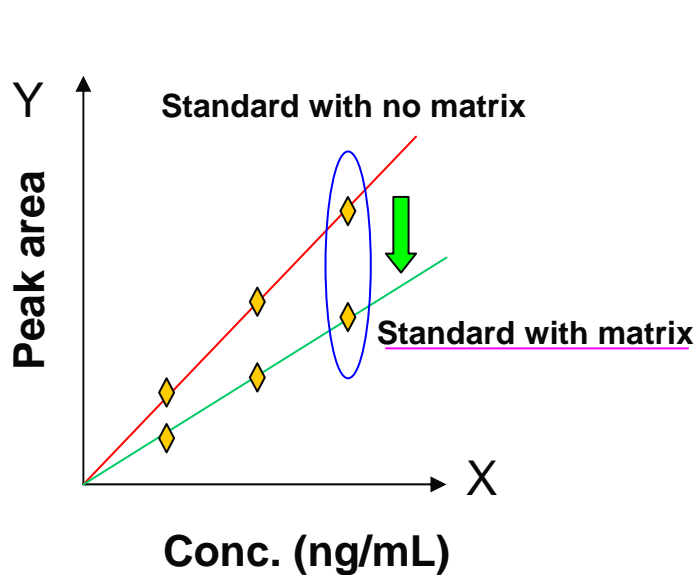
0.48



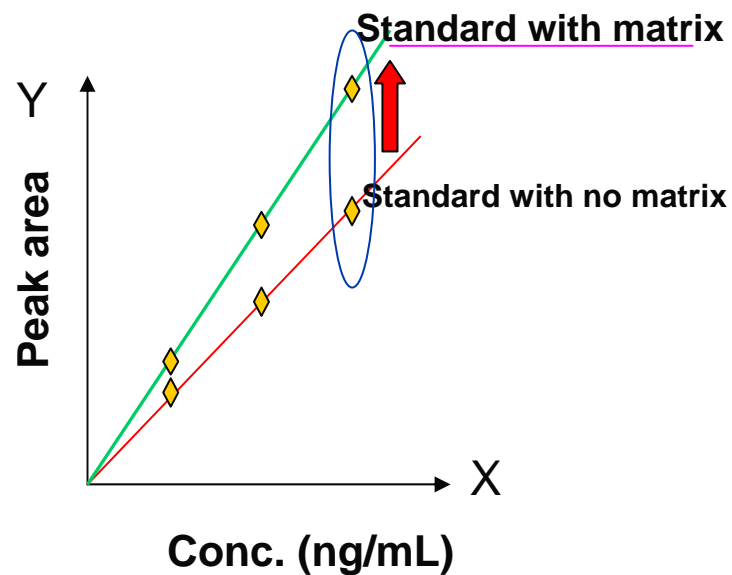
相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得 (≤100%)。容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20 ~ 50	± 25
> 10 ~ 20	± 30
≤ 10	± 50

Matrix Effects



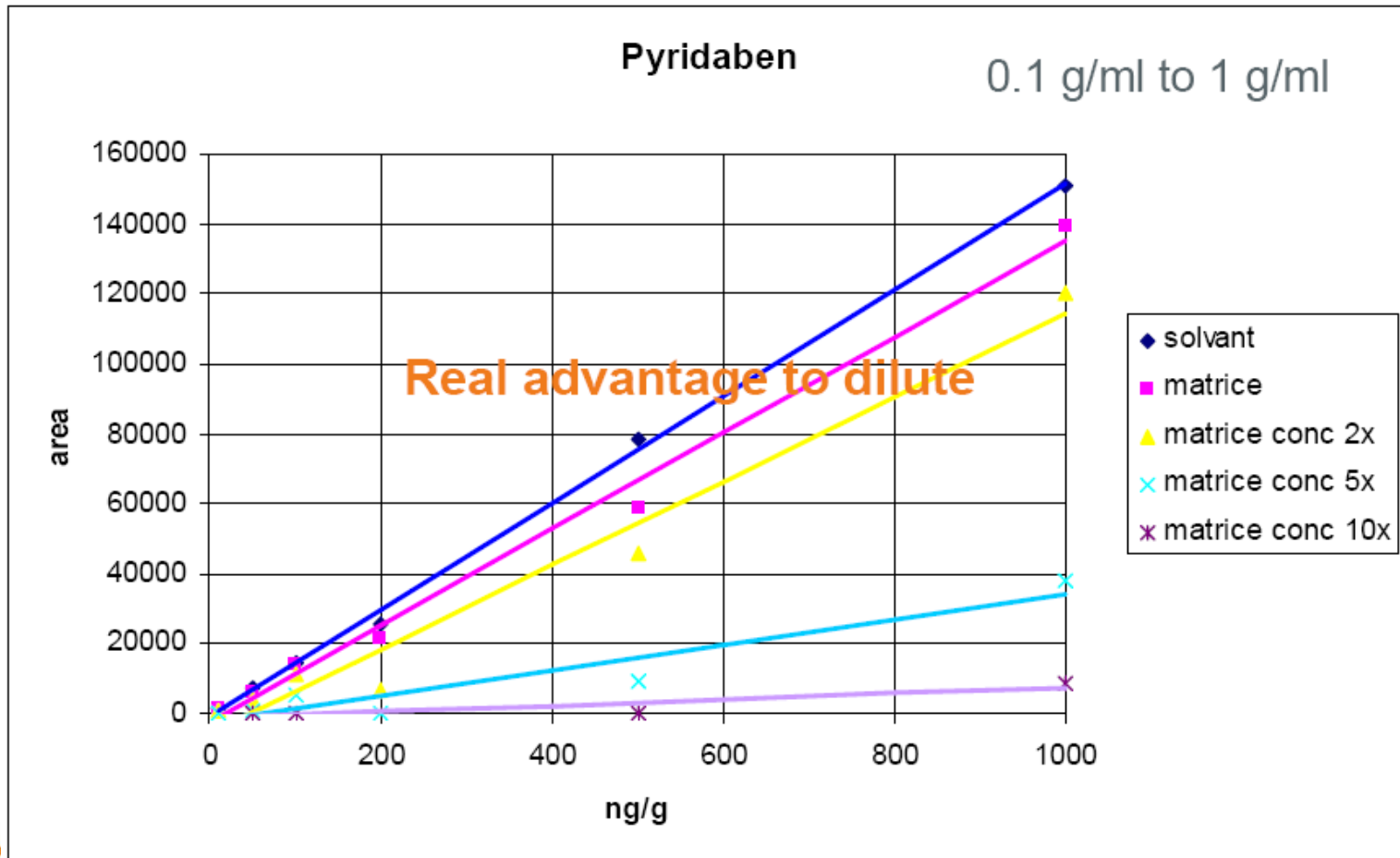
Inhibition



Enhancement

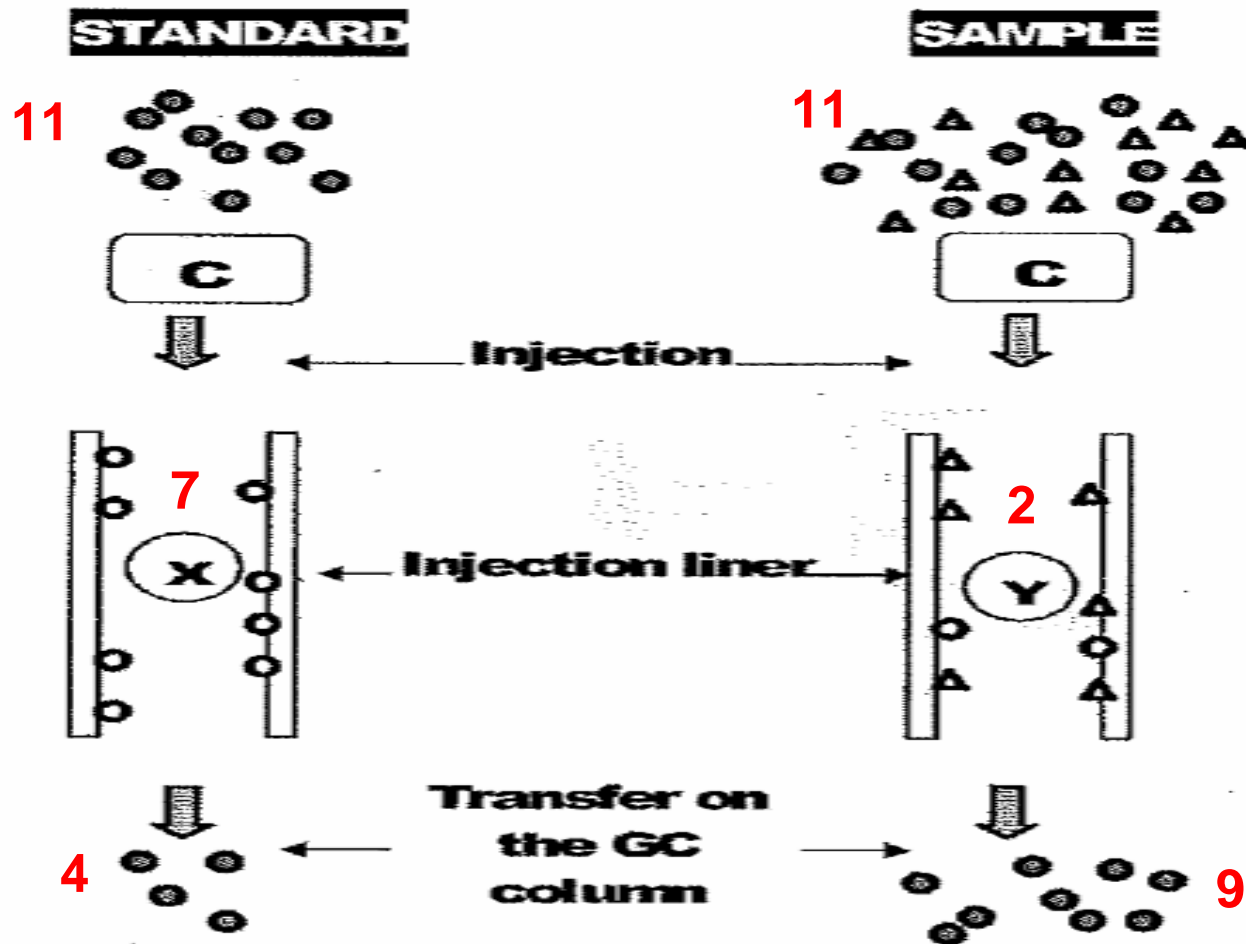


基質效應 (Matrix Effect)



Matrix-induced Enhancement (GC system)

Matrix block active site



Calibration

- External standard: 無法去除基質效應
- Internal standard:
Isotopically labeled standard
- Matrix-matched Calibration Curve
(基質匹配檢量線)
- Standard addition (標準品添加法)



Standard addition 操作流程

1. 分別量取檢液原液 200 μL (a) 至4個自動注射樣品瓶中。
2. 分別加入 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液 0、100、200、400 μL 。
3. 再加入 MeOH，使體積為 1000 μL (b)，混合均勻。
4. 以上步驟使添加農藥濃度為 0、100、200、400 ng/mL 。
5. 精確量取 10 μL 分別注入 LC/MS/MS 中進行分析。
6. 以添加濃度與定量離子波峰面積製作線性迴歸曲線， $y=mx+n$ ，並依下列計算式求得檢體中農藥之含量。

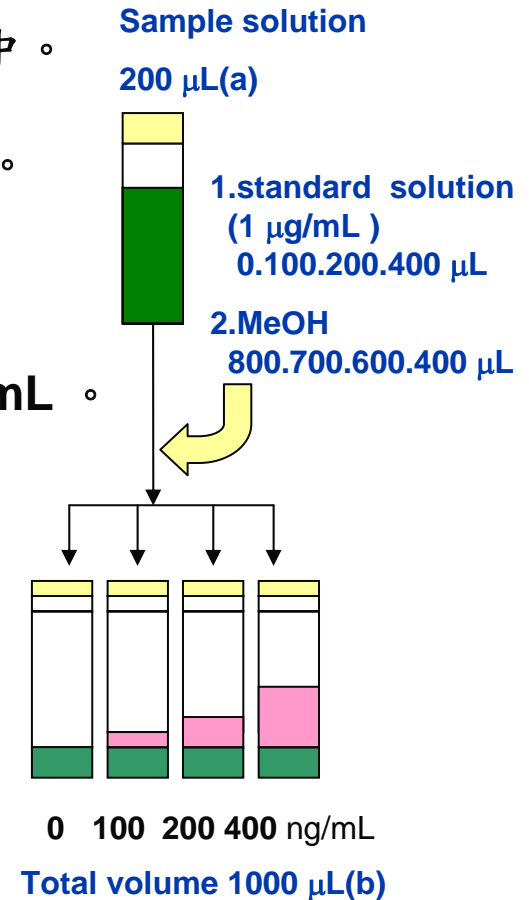
$$\text{檢體中各農藥之含量(ppm)} = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C: 檢液中分析物之濃度，由 n/m 求得 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

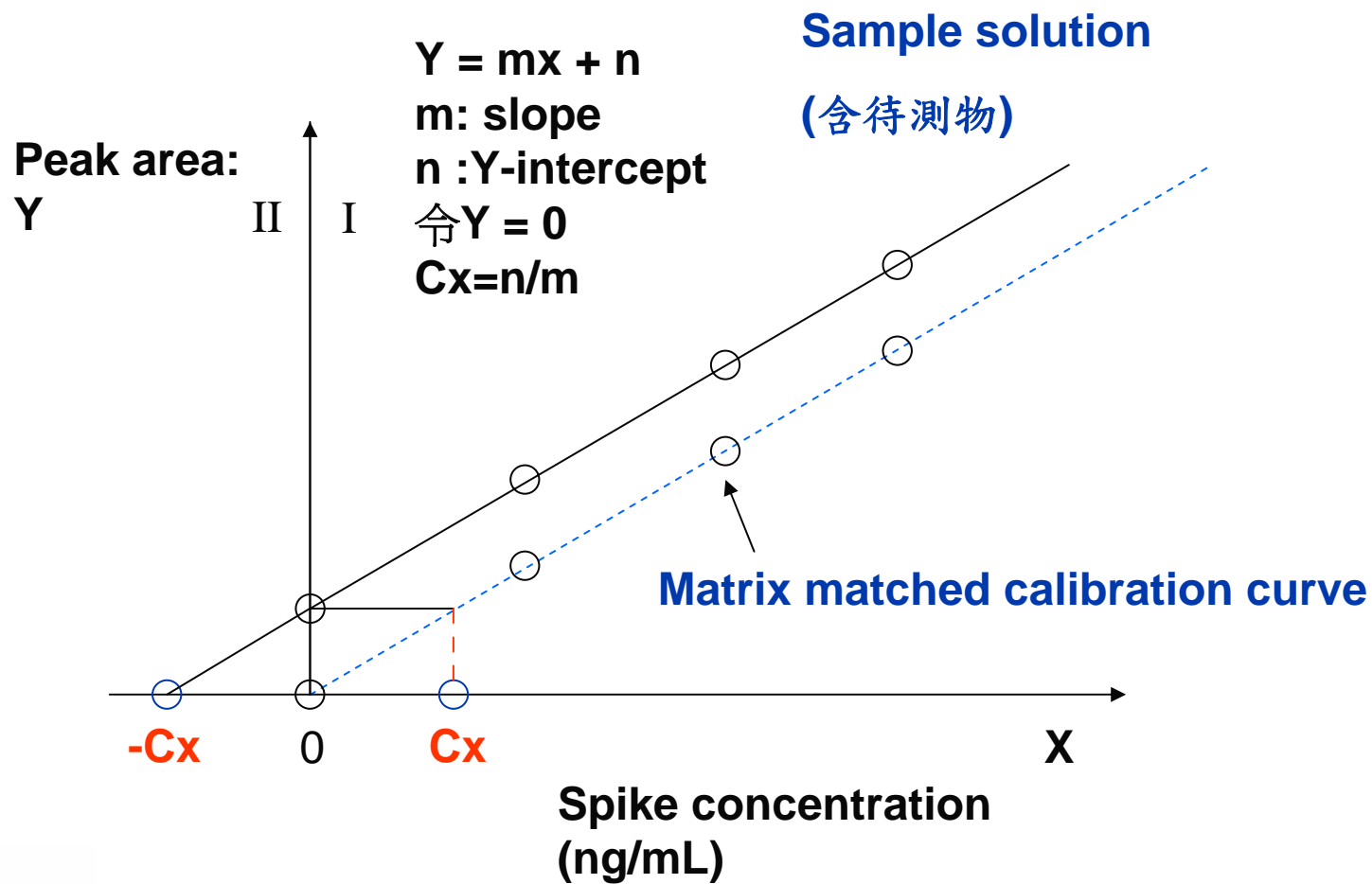
V: 檢體最後經定容之體積 (mL)

F: b/a

M: 取樣分析檢體之重量 (g)



Standard Addition



Validation for Quantitative Methods

- Recovery (trueness) : 70~120%
- Repeatability (precision) : $RSD \leq 20\%$
- LOQ (sensitivity) : Limit of determination



執行殘留農藥檢驗應注意事項

- 完整標準作業程序(SOP)
- 儀器及天平等要定期校正
- 標準原液之配製及保存(第2標準品來源)。
- 進行方法確效(回收率、重複性及檢出限量等)
- 落實日常品保及品管，並參與能力試驗及實驗室間比對。

Thanks for your attention!

