

111年度食品化學檢驗方法 推廣訓練班

擬公告修正之「食品中動物用藥殘留量檢
驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗」說明

研究檢驗組 食品化學科

2022.11.18



衛 生 福 利 部
食 品 藥 物 管 理 署
Taiwan Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>

大綱

- 緣起
- 四環黴素類抗生素介紹
- 修正草案說明
- 實驗室間共同試驗
- 檢驗方法相關問題回復
- 檢驗方法投稿專區

緣起-擬修正公告方法增加適用範圍及方法優化

93 年 01 月 14 日署授食字第 0939300627 號公告
100 年 12 月 27 日署授食字第 1001904986 號公告修正
101 年 06 月 14 日署授食字第 1011902056 號公告修正
102 年 09 月 06 日部授食字第 1021950329 號公告修正
103 年 12 月 10 日部授食字第 1031901795 號公告修正
110 年 02 月 08 日衛授食字第 1101900018 號公告修正
MOHWV0036.05

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－四環黴素類抗生素之檢驗

Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods -

Test of Tetracyclines

- 1.適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品之肌肉、內臟、乳汁、蛋類及蜂蜜中四環黴素(tetracycline)等7項抗生素(品項見附表)之檢驗。
- 2.檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。

配合法規制定及方法優化

- 新增「脂肪」基質
- 採用「檢量線」進行蛋類定量分析
- 優化前處理流程及層析條件

各界對公告方法意見：

- 蛋類以「基質匹配檢量線」定量分析結果稍差。
- 肌肉與內臟回收率稍差。
- 建議採用同位素內標及相似物內標進行定量分析。

食品中動物用藥殘留量檢驗方法－四環黴素類抗生素之檢驗(草案)

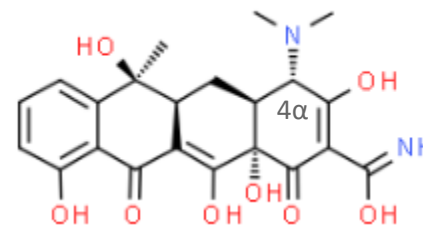
Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods -

Test of Tetracyclines (Draft)

- 1.適用範圍：本檢驗方法適用於畜禽水產品之肌肉、內臟、脂肪、蛋類、乳汁及蜂蜜中四環黴素(tetracycline)等7項抗生素(品項見附表)之檢驗。
- 2.檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。

介紹-四環黴素類抗生素作用功效與風險

- 四環黴素(tetracycline)由鏈黴菌屬放線菌門細菌產生，最早被發現的是四環黴素類的抗生素為氯四環黴素(又稱金黴素；chlortetracycline)。
- 四環黴素類抗生素(四環黴素、羟四環黴素、氯四環黴素、脫氧羟四環黴素)基本化學結構均由四個環接合而成，其能與細菌核糖體30S亞基結合，抑制蛋白質合成。
- 作用：
 - 抑制基因轉譯；抗菌範圍廣。
 - 治療呼吸道、中耳、尿道等部位的感染。
 - 使用在禽畜上，主要是因為廣泛抗菌性與成本優勢。
- 對人體可能的不良作用：
 - 對於敏感個體可能會有過敏現象。
 - 細菌的抗藥性問題。
 - 易與鈣在牙齒、骨表面形成螯合，造成變色及延緩骨骼生長。



Tetracycline

介紹-四環黴素類藥物殘留容許量(TW)

項次	學名	中文名稱	殘留部位	動物種類	殘留容許量 (ppm)
1	<u>Chlortetracycline</u> 、 <u>Oxytetracycline</u> 、 <u>Tetracycline</u>	氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	肌肉	魚(2)	0.2
2		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	肝	家畜類、家禽類	0.6
3		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	腎	家畜類、家禽類	1.2
4		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	蛋	家禽類	0.4
5		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	乳	家畜類	0.1
6		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	肌肉、脂	家畜類、家禽類	0.2
7		氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	肌肉	十足目(2)、無尾目(2)	0.1
8	<u>Doxycycline</u>	氯四環黴素、羥四環黴素及四環黴素	肌肉(含皮)	龜鱉目(2)	0.1
9		脫氧羥四環黴素	蛋	家禽類	0.2
10		脫氧羥四環黴素	肌肉	牛、豬、家禽類、綿羊、山羊	0.1
11		脫氧羥四環黴素	肝、脂	牛、豬、綿羊、山羊、家禽類	0.3
12		脫氧羥四環黴素	腎	牛、豬、綿羊、山羊、家禽類	0.6
13		脫氧羥四環黴素	肌肉	魚	0.01
14	Oxytetracycline (見Chlortetracycline)	羥四環黴素			
15	Tetracycline (見Chlortetracycline)	四環黴素			

【動物用藥殘留標準】§2 本標準所稱殘留容許量係「指標性殘留物質(marker residue)」之含量，包括該藥物原體及與該藥物殘留量具明顯關係之代謝產物。

介紹-四環黴素類藥物殘留容許量(EU)

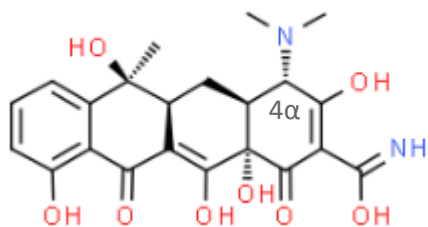
Pharmacologically active substances	Marker residue	Animal species	MRL	Target tissues	Other Provisions (according to Article 14(7) of Regulation (EC) No 470/2009)	Therapeutic classification
Chlortetracycline	Sum of parent drug and its 4-epimer	All food-producing species	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Muscle Liver Kidney Milk Eggs	For fin fish the muscle MRL relates to 'muscle and skin in natural proportions'. MRLs for fat, liver and kidney do not apply to fin fish.	Anti-infectious agents/Antibiotics
Oxytetracycline	Sum of parent drug and its 4-epimer	All food-producing species	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Muscle Liver Kidney Milk Eggs	For fin fish the muscle MRL relates to 'muscle and skin in natural proportions'. MRLs for fat, liver and kidney do not apply to fin fish.	
Tetracycline	Sum of parent drug and its 4-epimer	All food-producing species	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Muscle Liver Kidney Milk Eggs	For fin fish the muscle MRL relates to 'muscle and skin in natural proportions'. MRLs for liver and kidney do not apply to fin fish.	
Doxycycline	Doxycycline	ovine	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Muscle Liver Kidney	Not for use in animals from which milk is produced for human consumption.	
		Porcine, poultry	100 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Muscle Skin and fat Liver Kidney	Not for use in animals from which eggs are produced for human consumption.	

COMMISSION REGULATION (EU) No 37/2010



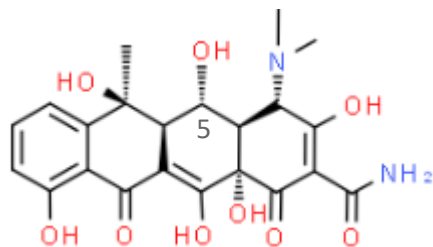
衛生福利部
食品藥物管理署
Taiwan Food and Drug Administration

介紹-四環黴素類藥物結構



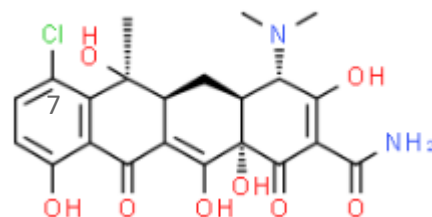
Tetracycline

$C_{22}H_{24}N_2O_8$
MW 444.4



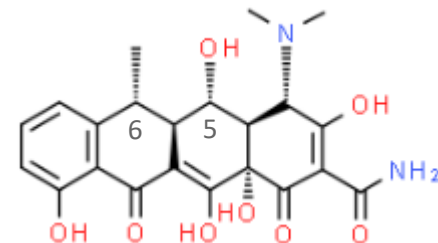
Oxytetracycline

$C_{22}H_{24}N_2O_9$
MW 460.4



Chlortetracycline

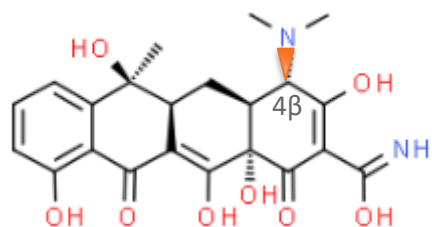
$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$
MW 478.9



Doxycycline

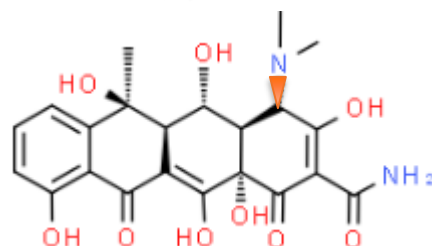
$C_{22}H_{24}N_2O_8$
MW 444.4

pH 2-6，形成四差向同分異構物(4-epimers)。



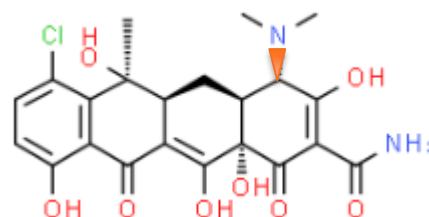
4-epimer-tetracycline

$C_{22}H_{24}N_2O_8$
MW 444.4



4-epimer-oxytetracycline

$C_{22}H_{24}N_2O_9$
MW 460.4



4-epimer-Chlortetracycline

$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$
MW 478.9

修正草案說明

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗(MOHVV0036.05)

- 5類基質(肌肉、內臟、乳汁、蜂蜜及蛋類)，均採用基質匹配檢量線進行含量測定。
- LC-MS/MS
- 檢測品項
 1. 四環黴素(Tetracycline)
 2. 羥四環黴素(**Oxy**tetracycline)
 3. 氯四環黴素(**Chlort**tetracycline)
 4. 脫氧羥四環黴素(**Doxy**cycline)
 5. 4-Epimer-tetracycline
 6. 4-Epimer-oxytetracycline
 7. 4-Epimer-chlortetracycline

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗修正草案(第二次預告修正)

- 6類基質(肌肉、內臟、脂肪、乳汁、蜂蜜及蛋類)，採用基質匹配檢量線或檢量線(蛋類)進行含量測定。
- LC-MS/MS
- 檢測品項
 1. 四環黴素(Tetracycline)
 2. 羥四環黴素(**Oxy**tetracycline)
 3. 氯四環黴素(**Chlort**tetracycline)
 4. 脫氧羥四環黴素(**Doxy**cycline)
 5. 4-Epimer-tetracycline
 6. 4-Epimer-oxytetracycline
 7. 4-Epimer-chlortetracycline

修正草案說明-四環黴素類抗生素之檢驗方法流程

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗(MOHWW0036.05)

- 5 g樣品

秤樣

- 加2.5%三氯醋酸 10 mL、旋渦混合1分鐘，1000 rpm 振盪5分鐘。
- 於4°C以3200 x g離心 5分鐘，取上清液

蛋白
沈澱

- 殘留物加入萃取溶液15 mL，重複萃取1次
- 合併上清液。
- 於4°C以12000 x g離心 5分鐘，取上清液淨化。

萃取

- Oasis HLB，6 mL，500 mg
- 吹氮濃縮，檢液以20%乙腈回溶1 mL。

淨化

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗修正草案(第二次預告修正)

- 2 g樣品

- 加2.5%三氯醋酸 5 mL，旋渦混合1分鐘，1000 rpm振盪5分鐘。
- 於4°C以3200 x g離心 5分鐘，取上清液。

- 殘留物加入萃取溶液10 mL，旋渦混合1分鐘，1000 rpm振盪5分鐘萃取後取上清液。
- 再重複萃取2次，合併上清液約 35 mL。
- 於4°C以12000 x g離心 5分鐘，取上清液淨化。

- Oasis HLB，6 mL，500 mg(活化：MeOH、H₂O；進樣；清洗：H₂O、5%MeOH；沖堤：MeOH)
- 沖堤液加入DMSO 50 µL吹氮濃縮，
- 殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液定溶2 mL(內臟類定容20 mL)

修正草案說明-四環黴素類抗生素之檢驗方法流程

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗(MOHWW0036.05)

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗修正草案(第二次預告修正)

- ACQUITY CSH C18, 1.7 μm (內徑 2.1 mm $\times$ 10 cm)

管柱

- 同公告方法

- A:0.1%甲酸水溶液 B:0.1%甲酸乙腈溶液

動相

- 同公告方法

- 18分鐘

層析時間

- 同公告方法

- 四環黴素等7項抗生素於肌肉、蛋類、乳汁、蜂蜜及蛋類中均為0.005 ppm，於內臟中均為0.05 ppm。
- 基質匹配檢量線之範圍0.025 ~ 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

品項

- 四環黴素等7項抗生素於肌肉、脂肪、蛋類、乳汁、蜂蜜及蛋類中均為0.005 ppm，於內臟中均為0.05 ppm。
- 基質匹配檢量線及檢量線之範圍 0.005 ~ 0.3 $\mu\text{g/mL}$ 。

修正草案說明-層析梯度條件

- 依公告方法層析動相及管柱條件

- 動相A: 0.1%甲酸之去離子水
- 動相B: 0.1%甲酸之乙腈溶液
- 層析管: ACQUITY CSH C18, 1.7 μm , 內徑 2.1 mm x 10 cm

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗(MOHVV0036.05)

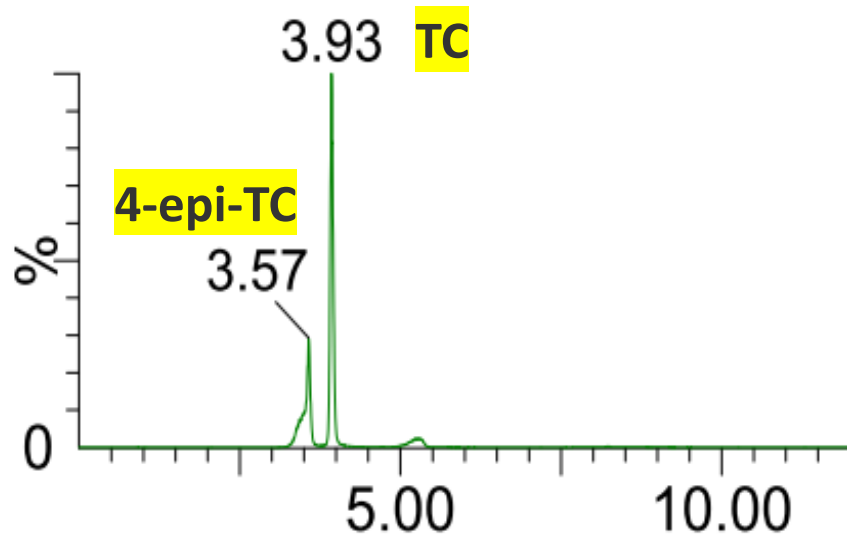
時間(min)	A%	B%
0 → 1	95 → 95	5 → 5
1 → 2	95 → 85	5 → 15
2 → 3	85 → 80	15 → 20
3 → 6	80 → 70	20 → 30
6 → 7	70 → 10	30 → 90
7 → 11	10 → 2	90 → 98
11 → 12	2 → 2	98 → 98
12 → 18	2 → 95	98 → 5

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗修正草案 (第二次預告修正)

時間(min)	A%	B%
0 → 1	95 → 95	5 → 5
1 → 6	95 → 85	5 → 15
6 → 9	85 → 70	15 → 30
9 → 9.5	70 → 2	30 → 98
9.5 → 14.5	2 → 2	98 → 98
14.5 → 15	2 → 95	98 → 5
15 → 18	95 → 95	5 → 5

修正草案說明-層析圖譜

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗(MOHVW0036.05)



4-epi TC離子對

445>410*

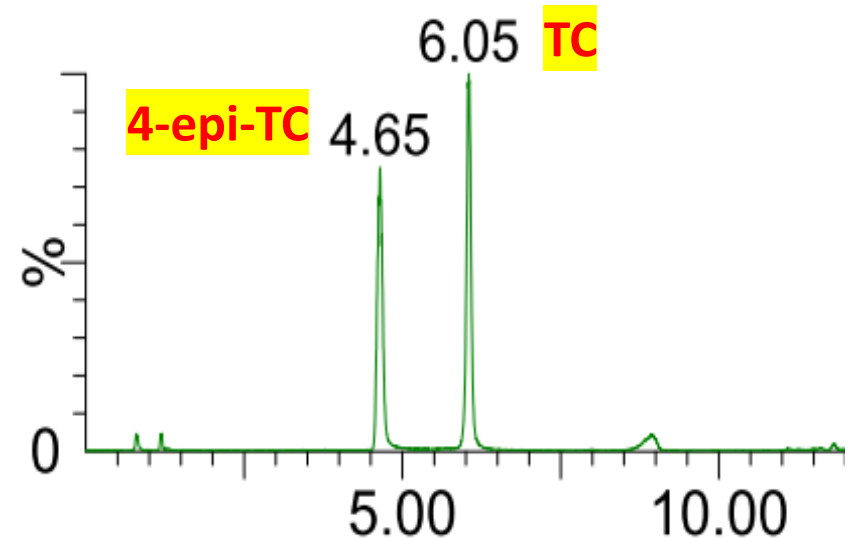
445>427

TC 離子對

445>410*

445>427

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之檢驗」修正草案



4-epi TC離子對

445>410*

445>427

445>392

TC 離子對

445>410*

445>427

445>226

*定量離子對，定性離子對可視基質情況選擇適合之至少一對離子對。

修正草案說明-四環黴素類抗生素之檢驗方法流程

食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之 檢驗修正草案(第二次預告修正)

秤樣

2 g 樣品

蛋白 沈澱

- 加2.5%三氯醋酸 **5 mL**，旋渦混合1分鐘，1000 rpm振盪5分鐘。
- 於4°C以3200 x g離心 5分鐘，取上清液。

萃取

- 殘留物加入萃取溶液**10 mL**，旋渦混合1分鐘，1000 rpm振盪5分鐘萃取後取上清液。
- 再重複萃取**2次**，合併上清液約 **35 mL**。
- 於4°C以12000 x g離心 5分鐘，取上清液淨化。

淨化

- Oasis HLB，6 mL，500 mg(活化：MeOH、H₂O；進樣；清洗：H₂O、5%MeOH；沖堤：MeOH)
- **沖堤液加入DMSO 50 µL吹氮濃縮，**
- **殘留物以含0.1%甲酸之20%甲醇溶液定溶2 mL(內臟類定容20 mL)**

管柱

ACQUITY CSH C18, 1.7 µm
(內徑 2.1 mm × 10 cm)

動相

A:0.1%甲酸水溶液 B:0.1%甲酸乙腈溶液
層析時間18 分鐘

品項

- 四環黴素等7項抗生素於肌肉、**脂肪**、蛋類、乳汁、蜂蜜及蛋類中均為0.005 ppm，於內臟中均為0.05 ppm。
- **基質匹配檢量線及檢量線之範圍 0.005 ~ 0.3 µg/mL。**

二、實驗室間共同試驗

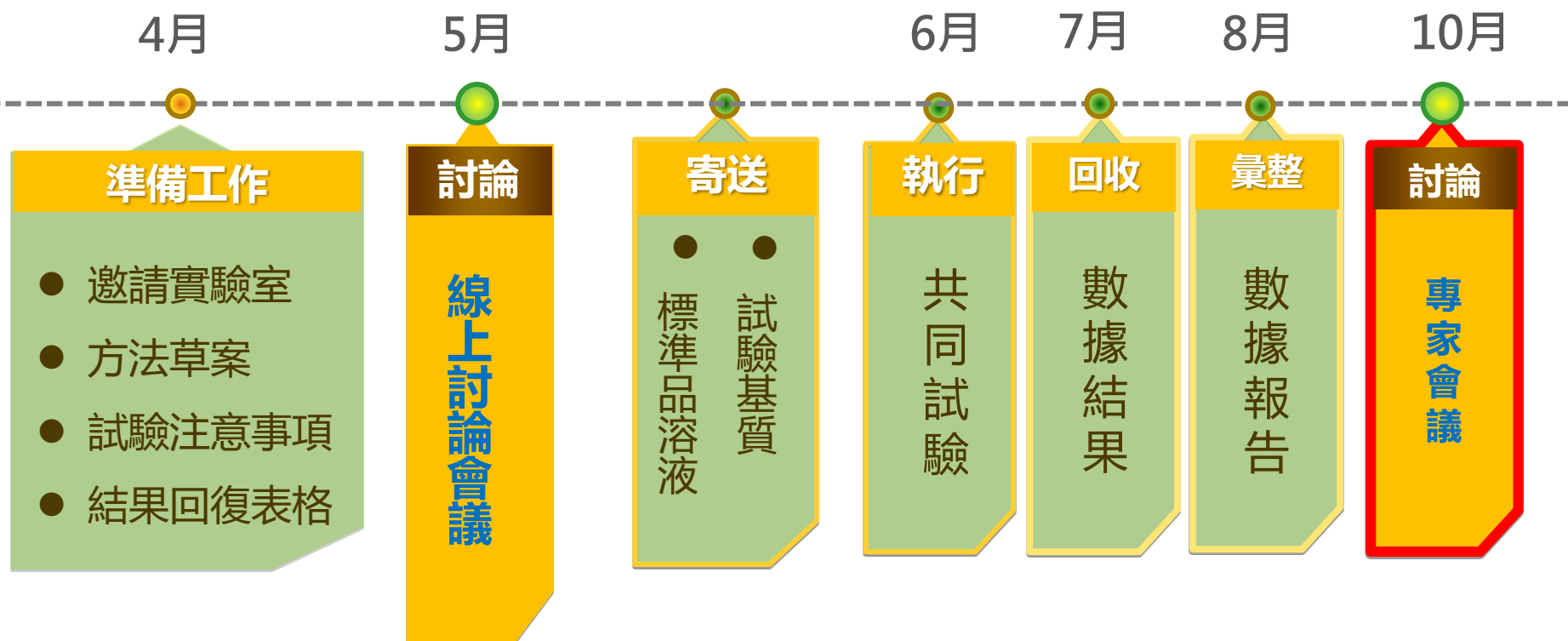
.....



衛生福利部
食品藥物管理署
Taiwan Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>

實驗室間共同試驗-歷程



食品中動物用藥殘留量檢驗方法 - 四環黴素類抗生素之
檢驗修正草案(第二次預告修正)

實驗室間共同試驗-基質添加試驗

• 基質添加試驗(n=5)

基質種類	肌肉、脂肪、乳汁、蜂蜜		內臟類		蛋類	
草案方法定量極限(μg/g)	0.005		0.05		0.005	
共同試驗執行濃度(μg/g)	0.005	0.015	0.05	0.15	0.005	0.015
定量分析方式/檢液製備	• 基質匹配檢量線 • 定容體積2 mL		• 基質匹配檢量線 • 定容體積20 mL		• 檢量線 • 定容體積2 mL	

• 四環黴素類抗生素之殘留容許量

藥品名稱	殘留部位	台灣
學名		殘留容許量 (μg/g)
• Doxycycline	肌肉	0.01~0.1
	內臟	0.3~0.6
	脂肪	0.3
	蛋	0.2
• Chlortetracycline • Oxytetracycline • Tetracycline	肌肉、脂、乳汁	0.1~0.2
	內臟	0.6~1.2
	蛋	0.4

實驗室間共同試驗-參與實驗室

- 實驗基質

A組：肌肉(豬肉)、內臟(豬肝)、乳汁(牛奶)

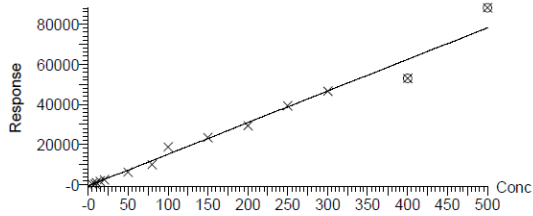
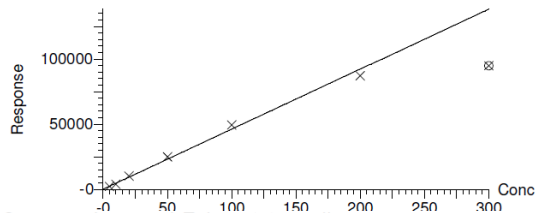
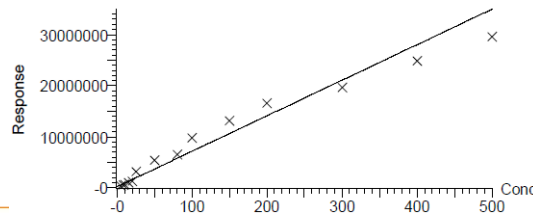
B組：脂肪(豬脂肪)、蛋類(雞蛋)、蜂蜜

- 參與實驗室

A組：5間實驗室

B組：5間實驗室

實驗室間共同試驗-檢量線範圍

儀器	感度	檢量線	檢量線範圍 ($\mu\text{g/mL}$)
液相層析串聯 質譜儀-1	低	Compound name: 4-epimer tetracycline Correlation coefficient: $r = 0.995260$, $r^2 = 0.990542$ Calibration curve: $157.482 * x + -547.12$ Response type: External Std, Area Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None 	<u>0.005~0.3</u> 線性範圍寬
液相層析串聯 質譜儀-2	中	Compound name: 4-Epimer tetracycline Correlation coefficient: $r = 0.996846$, $r^2 = 0.993702$ Calibration curve: $460.504 * x + 172.444$ Response type: External Std, Area Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None 	0.005~0.2
液相層析串聯 質譜儀-3	高	Compound name: 4-Epimer-tetracycline Correlation coefficient: $r = 0.975852$, $r^2 = 0.952287$ Calibration curve: $69585.9 * x + 194286$ Response type: External Std, Area Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None 	<u>0.005~0.02</u> 線性範圍窄

實驗室間共同試驗-實驗室使用之設備

組別	檢驗儀器品牌型號 液向層析串聯質譜儀	層析管柱品牌型號
A	Waters-TQS-Micro	ACQUITY CSH C18 1.7 μm · 2.1 mm x 10 cm
	AB SCIEX Qtrap 4500	Agilent Zorbax SB-C18 5 μm · 4.6 mm x 15 cm
	Shimadzu 8045	Shim-pack GIST C18 2 μm , 2.1 mm x 10 cm
	AB SCIEX Qtrap 4000	ZORBAX Eclipse Plus C18 3.5 μm · 2.1 mm x 10 cm
B	Waters-TQS	ACQUITY CSH C18 1.7 μm · 2.1 mm x 10 cm
	AB SCIEX Qtrap 4500	Poroshell 120 EC -C18 2.7 μm · 4.6 mm x 10 cm
	AB SCIEX Qtrap 4000	Waters Xselect HSS T3 3.0 μm , 3.0 mm x 15 cm
	AB SCIEX 6500+	Kinetex C18 1.7 μm · 2.1 mm x 10 cm



Waters-TQS-Micro



AB SCIEX API-4000



Shimadzu LCMS-8045

實驗室間共同試驗-共同實驗結果

	A組基質			B組基質		
	肌肉	內臟	乳汁	脂肪	蛋類	蜂蜜
納入統計家數(n)	3	3	3	4	4	4
說明	- 儀器感度無法達到定量極限(1家)。 - 試驗數據為離群值(1家)。			未依草案流程執行共同試驗(1家)。		

【評估實驗室數據納入本次統計之條件】

1. 基質匹配檢量線或檢量線之相關係數(r)不低於0.99。
2. 定量極限可達0.005 µg/g (S/N $\geq$ 10)。
3. 依草案方法執行試驗。
4. 試驗數據非為離群值。

肌肉(豬肉)實驗室間共同試驗精密度評估(n=3)

序號	分析物	添加濃度 (μg/g)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.005	100.8	27.9	27.6
		0.015	93.7	22.7	24.3
2	Oxytetracycline	0.005	101.8	26.4	26.0
		0.015	92.5	23.8	25.7
3	Chlortetracycline	0.005	103.7	38.1	36.7
		0.015	93.1	19.3	20.8
4	Doxycycline	0.005	99.7	24.7	24.7
		0.015	85.4	15.8	18.5
5	4-epimer-tetracycline	0.005	95.4	22.6	23.7
		0.015	84.6	7.5	8.9
6	4-epimer-oxytetracycline	0.005	98.3	23.2	23.6
		0.015	83.4	3.3	4.0
7	4-epimer-chlortetracycline	0.005	97.6	23.7	24.3
		0.015	84.2	7.2	8.6

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 (μg/g)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45



內臟(豬肝)實驗室間共同試驗精密度評估(n=3)

序號	分析物	添加濃度 (μg/g)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.05	87.5	8.1	9.2
		0.15	88.5	5.3	6.0
2	Oxytetracycline	0.05	97.7	15.4	15.7
		0.15	87.8	7.3	8.4
3	Chlortetracycline	0.05	88.7	12.0	13.6
		0.15	83.8	6.1	7.3
4	Doxycycline	0.05	88.2	21.5	24.4
		0.15	72.7	8.2	11.3
5	4-epimer-tetracycline	0.05	94.3	19.3	20.5
		0.15	88.4	2.8	3.2
6	4-epimer-oxytetracycline	0.05	86.9	3.0	3.4
		0.15	83.7	3.7	4.5
7	4-epimer-chlortetracycline	0.05	95.2	17.8	18.7
		0.15	79.9	5.2	6.5

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 (μg/g)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45



乳汁(牛奶)實驗室間共同試驗精密度評估(n=3)

序號	分析物	添加濃度 (µg/g)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.005	94.1	12.5	13.3
		0.015	93.4	17.9	19.1
2	Oxytetracycline	0.005	97.4	9.9	10.1
		0.015	91.9	15.8	17.2
3	Chlortetracycline	0.005	85.4	21.2	24.9
		0.015	90.8	10.8	11.9
4	Doxycycline	0.005	98.3	7.7	7.8
		0.015	88.2	4.5	5.1
5	4-epimer-tetracycline	0.005	85.6	3.3	3.8
		0.015	88.7	5.8	6.5
6	4-epimer-oxytetracycline	0.005	95.1	12.8	13.5
		0.015	87.6	7.1	8.1
7	4-epimer-chlortetracycline	0.005	86.7	24.9	28.7
		0.015	82.8	10.3	12.5

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 (µg/g)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45



脂肪(豬脂肪)實驗室間共同試驗精密度評估(n=4)

序號	分析物	添加濃度 (µg/g)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.005	98.1	13.5	13.8
		0.015	89.6	7.5	8.3
2	Oxytetracycline	0.005	99.6	12.5	12.5
		0.015	95.9	2.5	2.7
3	Chlortetracycline	0.005	90.7	5.4	5.9
		0.015	83.9	12.2	14.5
4	Doxycycline	0.005	98.2	5.3	5.4
		0.015	87.0	10.3	11.8
5	4-epimer-tetracycline	0.005	92.3	18.1	19.6
		0.015	86.2	14.4	16.7
6	4-epimer-oxytetracycline	0.005	90.9	27.9	30.7
		0.015	80.2	27.5	34.3
7	4-epimer-chlortetracycline	0.005	91.8	10.2	11.1
		0.015	83.9	14.8	17.7

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 (µg/g)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45

蛋類(雞蛋)實驗室間共同試驗精密度評估(n=4)

序號	分析物	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.005	100.7	13.2	13.1
		0.015	92.9	7.1	7.6
2	Oxytetracycline	0.005	102.8	7.0	6.8
		0.015	93.6	5.8	6.2
3	Chlortetracycline	0.005	95.9	14.2	14.8
		0.015	90.1	4.3	4.8
4	Doxycycline	0.005	106.0	13.2	12.5
		0.015	90.0	5.9	6.6
5	4-epimer-tetracycline	0.005	104.5	8.6	8.3
		0.015	91.2	6.1	6.7
6	4-epimer-oxytetracycline	0.005	109.1	7.3	6.7
		0.015	91.5	4.7	5.2
7	4-epimer-chlortetracycline	0.005	104.3	12.9	12.4
		0.015	91.6	8.0	8.7

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45



蜂蜜實驗室間共同試驗精密度評估(n=4)

序號	分析物	添加濃度 (µg/g)	平均回收率 (%)	SD	CV%
1	Tetracycline	0.005	91.6	13.5	14.8
		0.015	93.3	4.4	4.7
2	Oxytetracycline	0.005	90.4	18.1	20.0
		0.015	94.8	4.3	4.6
3	Chlortetracycline	0.005	107.2	9.1	8.5
		0.015	93.7	5.5	5.8
4	Doxycycline	0.005	112.9	12.2	10.8
		0.015	94.4	5.0	5.3
5	4-epimer-tetracycline	0.005	98.5	15.4	15.6
		0.015	91.7	7.3	8.0
6	4-epimer-oxytetracycline	0.005	104.6	10.8	10.4
		0.015	93.4	7.6	8.1
7	4-epimer-chlortetracycline	0.005	105.9	11.4	10.8
		0.015	92.1	5.2	5.6

食品化學檢驗方法之確效規範

添加濃度 (µg/g)	回收率 (%)	CV %
>0.1 ~ 1	70 ~ 120	23
>0.01~0.1	70 ~ 120	32
>0.001 ~ 0.01	60 ~ 125	45



三、檢驗方法相關討論事項

.....



衛生福利部
食品藥物管理署
Taiwan Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>

檢驗方法相關討論事項

討論1：實驗室建議以檢量線搭配同位素內標及相似物內標進行定量分析，藉以提升實驗數據的準確度及穩定性。

回應：1.本方法草案使用基質匹配檢量線進行定量分析，其回收率及變異係數皆符合本署食品化學檢驗方法確效規範。

2.考量四環黴素標準品(7品項)，其部分品項尚無對應之同位素內部標準品，且經評估使用相似物(Demeclocycline)作為內部標準品進行校正時，部分四環黴素類藥物校正結果不佳。

3.綜上考量，本草案擬維持不採用內部標準品進行定量分析。

豬脂肪基質添加分析結果

Compound	以基質匹配檢量線進行定量分析(n=5)				以基質匹配檢量線搭配 內部標準品*進行定量分析(n=5)			
	0.005 µg/g		0.01 µg/g		0.005 µg/g		0.01 µg/g	
	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)
Tetracycline	96.5	6.0	84.2	6.4	153.8	10.5	128.6	10.0
Oxytetracycline	98.2	4.9	89.5	4.2	159.6	12.0	138.5	12.3
Chlortetracycline	89.5	8.3	79.3	4.7	141.3	8.6	121.3	13.6
Doxycycline	106.1	10.9	88.7	7.2	174.1	22.3	137.4	17.7
4-Epimer-tetracycline	109.4	2.7	92.0	3.8	174.2	14.0	140.5	12.3
4-Epimer-oxytetracycline	113.7	3.7	99.0	3.8	180.8	12.7	151.6	14.3
4-Epimer-chlortetracycline	97.2	7.8	90.6	4.1	152.3	7.9	138.4	14.8

*:相似物Demeclocycline



雞蛋基質添加分析結果

Compound	以基質匹配檢量線進行定量分析(n=5)				以基質匹配檢量線搭配 內部標準品*進行定量分析(n=5)			
	0.005 µg/g		0.01 µg/g		0.005 µg/g		0.01 µg/g	
	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)	回收率 (%)	CV (%)
Tetracycline	93.1	1.1	90.4	4.9	140.4	3.2	133.9	6.4
Oxytetracycline	88.7	1.9	87.3	5.0	135.2	4.1	129.4	5.2
Chlortetracycline	87.1	2.1	81.7	5.9	131.0	2.1	120.7	7.1
Doxycycline	63.3	2.6	60.2	4.5	96.9	8.8	91.6	7.6
4-Epimer-tetracycline	84.6	1.6	79.8	3.4	126.2	3.0	117.8	6.7
4-Epimer-oxytetracycline	80.6	5.3	76.1	2.8	116.2	2.8	110.5	5.3
4-Epimer-chlortetracycline	81.6	1.4	75.5	1.5	120.6	1.8	111.4	4.9

*:相似物Demeclocycline



衛生福利部
食品藥物管理署
Taiwan Food and Drug Administration

檢驗方法相關討論事項

討論2：實驗室建議方法萃取次數由2次改為1次，且吹氮步驟不需加入DMSO，僅注意監控氮氣吹至微乾即可。

回應2：萃取次數為本方法草案之重要步驟，其可提升回收率，故不宜減少萃取次數。另DMSO係為避免吹氮濃縮至過乾而影響分析結果，倘若實驗室不添加DMSO，可自行查證後為之。

檢驗方法相關討論事項

討論3：實驗室說明內臟基質之定量極限為0.05 $\mu\text{g/g}$ ，且其基質匹配檢量線範圍(0.005 ~ 0.3 $\mu\text{g/g}$)已涵蓋之，因此建議製作檢液時無需稀釋10倍。

回應3：本次實驗室間共同試驗設計(內臟基質)樣品添加濃度為0.05及0.15 $\mu\text{g/g}$ ，依據本方法草案所製得之檢液濃度分別為0.005及0.015 $\mu\text{g/mL}$ ，均落於(內臟基質)基質匹配檢量線範圍0.005 ~ 0.3 $\mu\text{g/mL}$ ，且為避免過多的內臟基質污染儀器設備，故回溶檢液須稀釋10倍。

檢驗方法相關討論事項

討論4：執行本方法草案時，由於各家儀器設備不同，部分液相層析質譜儀感度不足，無法符合定量極限 $0.005\ \mu\text{g/g}$ ，因此建議提高方法之定量極限。

回應4：由於藥劑Doxycycline在魚肉基質之殘留容許量為 $0.01\ \mu\text{g/g}$ ，且原則上方法定量極限宜低於殘留容許量，故本方法草案之定量極限仍維持 $0.005\ \mu\text{g/g}$ 。

檢驗方法相關討論事項

其他討論及說明：

- 1.使用感度不同之儀器，其所得之檢量線線性範圍不同，各實驗室可自行評估線性範圍上限之濃度點，惟最低點須涵蓋定量極限之濃度。
- 2.為避免使用SPE管柱淨化時有阻塞之情形發生，可將基質較複雜之樣品萃取液，先以低溫冷卻後配合高速離心，甚至可增加離心時間，使固形物能夠充分沉降。

檢驗方法投稿專區

目的：透過公開對外徵求與跨部會合作，收集各式檢驗方法草案，經審查後公開給外界依循使用，將檢驗方法開發端從中央實驗室擴展為全國多個機構團隊，以擴大檢驗方法涵蓋品項與範圍，提高法規涵蓋率，並即時因應各式輿情事件，加速檢驗技術之研發。

公告檢驗方法

提供食品衛生檢驗之依據，並經法定公告程序發布。

建議檢驗方法

供國內外各界參考及實驗室依循，實驗室可視檢驗需求進行方法修改。

檢驗方法草案投稿須知【發布日期：2021-11-12】

檢驗方法草案投稿須知

檔案下載

- 檢驗方法草案投稿須知
- 附件5.1食品藥物管理署檢驗方法提案單
- 附件5.2檢驗方法撰寫格式及注意事項
- 附件5.3食品化學檢驗方法提案查檢表

公告檢驗方法格式

檢驗方法

提供檢驗方法

建議。

品、醫療器材及化粧品檢驗常見問答

檢驗方法執行注意事項

檢驗方法投稿專區

本署受理食品檢驗方法草案投稿之文件要求及審查流程。

食品化學檢驗方法提案查檢表

項目	提案單位自評	
一、檢驗方法提案單-各欄位詳實填寫。	☐ 符合。	
二、檢驗方法草案-依「檢驗方法撰寫格式及注意事項」撰擬。		
1. 檢驗標的與適用範圍符合徵求內容。	☐ 符合。	
2. 中英文字型、字體、標點符號及段落格式設定符合要求。	☐ 符合。	
3. 紙張(A4)及邊界設定符合要求。	☐ 符合。	
4. 數字及圖表書寫格式符合要求。	☐ 符合。	
5. 參考文獻書寫格式符合要求。	☐ 符合。	
三、法規及參考文獻。		
1. 提供相關法規條文影本。	☐ 有。	☐ 不適用。
2. 提供參考文獻影本。	☐ 有。	☐ 不適用。
四、檢驗方法確效資料-參考「食品化學檢驗方法之確效規範」。		
1. 檢量線。	☐ 符合。	☐ 不適用。
2. 專一性。	☐ 符合。	☐ 不適用。
3. 準確度。	☐ 符合。	☐ 不適用。
4. 精密度。	☐ 符合。	☐ 不適用。
5. 定量極限。	☐ 符合。	☐ 不適用。
6. 結果數據-包括空白、標準品及檢體之數據及圖譜。	☐ 有。	☐ 無。
7. 其它：。	☐ 有。	☐ 無。
*以上項目「不適用」或「無」者，請於下方欄位補充說明。		



衛生福利部
食品藥物管理署
Taiwan Food and Drug Administration

謝謝聆聽
敬請指教

.....



衛 生 福 利 部
食 品 藥 物 管 理 署
Taiwan Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>