

市售畜禽產品中動物用藥乙型受體素類(β -Agonists) 殘留量調查

李瑋埕 謝綺文 周珮如 古遠丰 蘇淑珠 施養志

第四組

摘要

97年度市售畜禽產品檢體委由各縣市(政府)衛生局進行採樣，包括豬肉10件、豬內臟6件、牛肉5件、鴨肉6件及鵝肉10件等37件。以液相層析串聯質譜法(liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC/MS/MS)進行clenbuterol、terbutaline、salbutamol及ractopamine等4種乙型受體素類(β -agonists)殘留量調查。結果鴨肉及鵝肉各1件分別檢出salbutamol 0.47及7.45 ppb，與規定不符者5.4%，本調查結果已由本局發布新聞在案。

關鍵詞：乙型受體素、動物用藥、畜禽產品、液相層析串聯質譜法

前言

乙型受體素類(β -agonists)係為腎上腺素乙型受體作用劑(β -adrenergic agonist)，具有擬交感神經活性之合成分子，屬於結構與功能類似腎上腺素及正腎上腺素之苯乙醇胺類衍生物，包括ractopamine (β 1)類、zilpaterol (β 2)類、cimaterol (β 2)類、clenbuterol (β 2)類及salbutamol (β 2)類等⁽¹⁾。依照苯環上取代基之差異，可將乙型受體素類(β -agonists)結構分為極性較強之苯酚型(phenol type)，如salbutamol及極性較弱之苯胺型(aniline type)，如clenbuterol⁽²⁾。乙型受體素類(β -agonists)一般用於治療人或動物之支氣管疾病，例如clenbuterol、terbutaline及salbutamol在我國皆為核准的人用藥品。另ractopamine在國內外皆未供人使用，而是做為飼料添加物(美國、加拿大、日本等國家准用)，能使動物體內營養成分由脂肪組織轉移為肌肉組織，稱為再分配效應(repartitioning effects)，使體內之脂肪分解代謝增強，可增加蛋白質合成，顯著提高瘦肉率、飼料轉換率及增重⁽³⁾，故又俗名瘦肉精⁽⁴⁾。

1980年末期以來，高劑量之 β -agonists被非

法使用於畜牧生產，以促進家畜生長及改善品質，歐盟及其他國家都出現含clenbuterol之畜產品⁽⁵⁾，如西班牙亦發生因食用殘留clenbuterol之牛肝而引起食物中毒之案例^(6,7)。自1998年以來，中國亦發生數起「瘦肉精中毒事件」⁽⁸⁾，而2006年中國上海市發生多數市民因食用殘留clenbuterol豬內臟及豬肉導致中毒⁽⁹⁾。由於 β -agonists對人體會引起與心臟、中樞神經系統及肺臟相關之急性中毒，因此被很多國家禁用⁽¹⁰⁾。歐盟將乙型受體素類禁用於畜牧業⁽¹¹⁾，但美國准許商品名為Paylean[®]及Optafless[®]之ractopamine分別用於豬⁽¹²⁾和牛⁽¹³⁾之動物用藥，並且訂有相關畜產品之容許量(tolerance)⁽¹⁴⁾。聯合國糧農組織/世界衛生組織聯合食品添加物專家委員會(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)有建議畜產中ractopamine最大殘留限量(Maximum Residue Limits, MRLs)之草案⁽¹⁵⁾，國際食品法典委員會(Codex Alimentarius Commission)則訂有畜產中clenbuterol之MRLs⁽¹⁶⁾。日本正面表列制度(Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods)訂有ractopamine及clenbuterol之MRLs⁽¹⁷⁾。行政院農委會於2006年10月公告「受

市售禽畜產品中動物用藥乙型受體素類(β -Agonists)殘留量調查

體素包括Salbutamol、Terbutaline、Clenbuterol、Ractopamine..等為禁止製造、調劑、輸入、輸出、販賣或陳列供產食動物(Food-producing animals)使用之毒害藥品」⁽¹⁸⁾。行政院衛生署公告之「動物用藥殘留標準」⁽¹⁹⁾，肉品中皆不得檢出 β -agonists。

本局於93年度建立畜禽產品中乙型受體素類(β -agonists)動物用藥之檢驗方法⁽²⁰⁾，以LC/MS/MS同時檢測禽畜產品中clenbuterol、salbutamol、terbutaline及tulobuterol四種乙型受體素，此方法業已成為行政院衛生署公告方法⁽²¹⁾。93年度利用此方法監測市售禽畜產品44件，結果有3件鵝肉、3件鵝肝及2件鵝腎檢體檢出salbutamol 1.10~11.21 ppb，與規定不符者達18.2%⁽²⁰⁾。95年度監測市售禽畜產品30件則皆未檢出⁽²²⁾。96年因美國進口豬肉檢出ractopamine，但該藥物並未列於94年公告方法之內，故96年將94年原公告方法稍加修飾，建立以LC/MS/MS檢測畜禽產品中clenbuterol、ractopamine、salbutamol及terbutaline之檢驗方法，同時利用該方法檢測市售禽畜產品共145件，結果有3件豬肉及4件鵝肉檢出ractopamine，另有3件鵝肉檢出salbutamol，與規定不符者達6.9%⁽²³⁾。97年度仍持續抽驗禽畜產品37件，進行乙型受體素類(β -agonists)動物用藥之殘留量調查，以瞭解市售禽畜產品是否仍有乙型受體素類動物用藥之不法殘留情形。

材料與方法

一、檢體來源

民國97年3月至8月由各縣市(政府)衛生局以稽查方式至其轄區之大賣場、傳統市場、超級市場及鵝肉專賣店等商號取得檢體，包括豬肉10件、豬內臟6件、牛肉5件、鴨肉6件及鵝肉10件共37件(表一)。檢體取得後於-20°C保存，直至分析時取出使用。

二、化學藥品

Clenbuterol hydrochloride (> 98%)、salbutamol (99.0%)、terbutaline hemisulfate salt (99%)、

表一、各縣市衛生局送驗檢體件數

縣市名稱	送驗檢體數
台北縣	3
桃園縣	2
新竹市	2
新竹縣	1
苗栗縣	2
台中市	2
彰化縣	3
南投縣	2
雲林縣	1
嘉義市	1
嘉義縣	1
台南縣	2
宜蘭縣	2
花蓮縣	1
澎湖縣	3
金門縣	6
福建省連江縣	3
總計	37

ractopamine hydrochloride (95.6%)及內部標準品(internal standard, I.S.) clenbuterol hydrochloride-d₉ (CLEN-d₉)及ractopamine-d₅ (RACT-d₅)分別購自Australian Government National Measurement Institute (Sydney, Australia)及RIVM, European Community Reference Laboratories (Bilthoven, Netherland)。乙腈及甲醇為HPLC級，購自Labscan Co., Ltd. (Bankok, Thailand)。醋酸鈉、醋酸銨、氫氧化鈉及冰醋酸為Nacalai Tesque Inc. (Kyoto, Japan)之特級產品。 β -Glucuronidase (G-0876, type H-2, from helix pomatia)購自Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)。固相萃取匣Oasis HLB (6 mL, 200 mg)為Waters Corporation (Milford, MA, U.S.A.)產品，使用前預先以甲醇3 mL及水3 mL潤洗。

三、儀器設備與裝置

以均質攪拌機(ACE homogenizer, Nihonseiki Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)，振盪器(祥泰精機

股份有限公司)、離心機(Labofuge 400, Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany)、旋渦混合器(Vortex mixer, Type 37600 Mixer, Thermolyne Corporation, Iowa, U.S.A.)及固相真空萃取裝置(Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.)用於檢液製備。

高效液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)係Alliance 2695液相層析儀系統連結Waters Micromass Quattro Premier質譜儀(Waters Corporation, Milford, MA, U.S.A.)，離子源採電灑法(electrospray ionization, ESI)偵測正離子，並以MassLynx軟體操控及進行數據處理。

四、檢體製備

依據行政院衛生署公告「食品中動物用藥殘留量檢驗方法—乙型受體素類多重殘留分析」⁽²¹⁾，於96年將上述公告方法稍加修飾⁽²³⁾，進行檢體萃取及淨化等前處理，以LC/MS/MS進行clenbuterol、salbutamol、terbutaline及ractopamine四種乙型受體素的檢測，實驗之操作流程見圖一所示。

(一)萃取

檢體均質後，精確稱取檢體5 g，置於均質攪拌機中，加入0.2 M醋酸鈉緩衝液(pH 5.2) 15 mL，攪拌均質2分鐘後，移入50 mL塑膠離心管，加入混合內部標準溶液(100.0 ng/mL) 100 μ L及 β -glucuronidase 100 μ L，於37°C水浴中水解1小時。於4,000 rpm離心10分鐘，收集上澄清液，離心管中之沈澱物再加入0.2 M醋酸鈉緩衝液(pH 5.2) 15 mL，振盪萃取10分鐘，於4,000 rpm離心10分鐘。合併上澄清液，以1 N氫氧化鈉溶液調整pH值為7.0，再於4,000 rpm離心10分鐘，取上澄清液供淨化用。

(二)淨化

將供淨化用溶液注入預經甲醇3 mL及水3 mL潤洗且裝置於真空固相萃取裝置上之Oasis® HLB萃取匣，以去離子水4 mL清洗萃取匣，增加抽真空壓力使萃取匣乾燥，棄去流出液。以甲醇4 mL沖提萃取匣，收集沖提液

於65°C以氮氣吹乾，殘留物加乙腈：7 mM醋酸銨(8：2, v/v)溶液1.0 mL，以旋渦混合器振盪溶解，經0.2 μ m濾膜(Nylon, Micron Separations Inc., Westborough, MA, U.S.A.)過濾後，作為檢液，以供LC/MS/MS分析。

五、液相層析串聯質譜儀測定

(一)液相層析儀條件

層析管柱為Polaris Si-A (3 μ m, 50 mm \times 2.0 mm; Varian MetaChem Products, Torrance, CA, U.S.A.)，實驗前依序以異丙醇及85%乙腈溶液分別流洗1小時(0.2 mL/min)。移動相為乙腈：7 mM醋酸銨(85：15, v/v)溶液，注入量10 μ L，流速為0.2 mL/min (表二)。

(二)串聯質譜儀條件

離子源採電灑法離子化偵測正離子，搭配MRM偵測模式進行偵測。質譜儀之分析參數及MRM偵測之離子詳如表三及表四。

六、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各10 μ L，分別注入液相層析串聯質譜分析儀中，依據前述條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度⁽¹⁶⁾鑑別之，並依下列計算式求得檢體中 β -agonists含量(ppb)：

$$\text{檢體中}\beta\text{-agonists之含量(ppb)} = \frac{C \times V}{M}$$

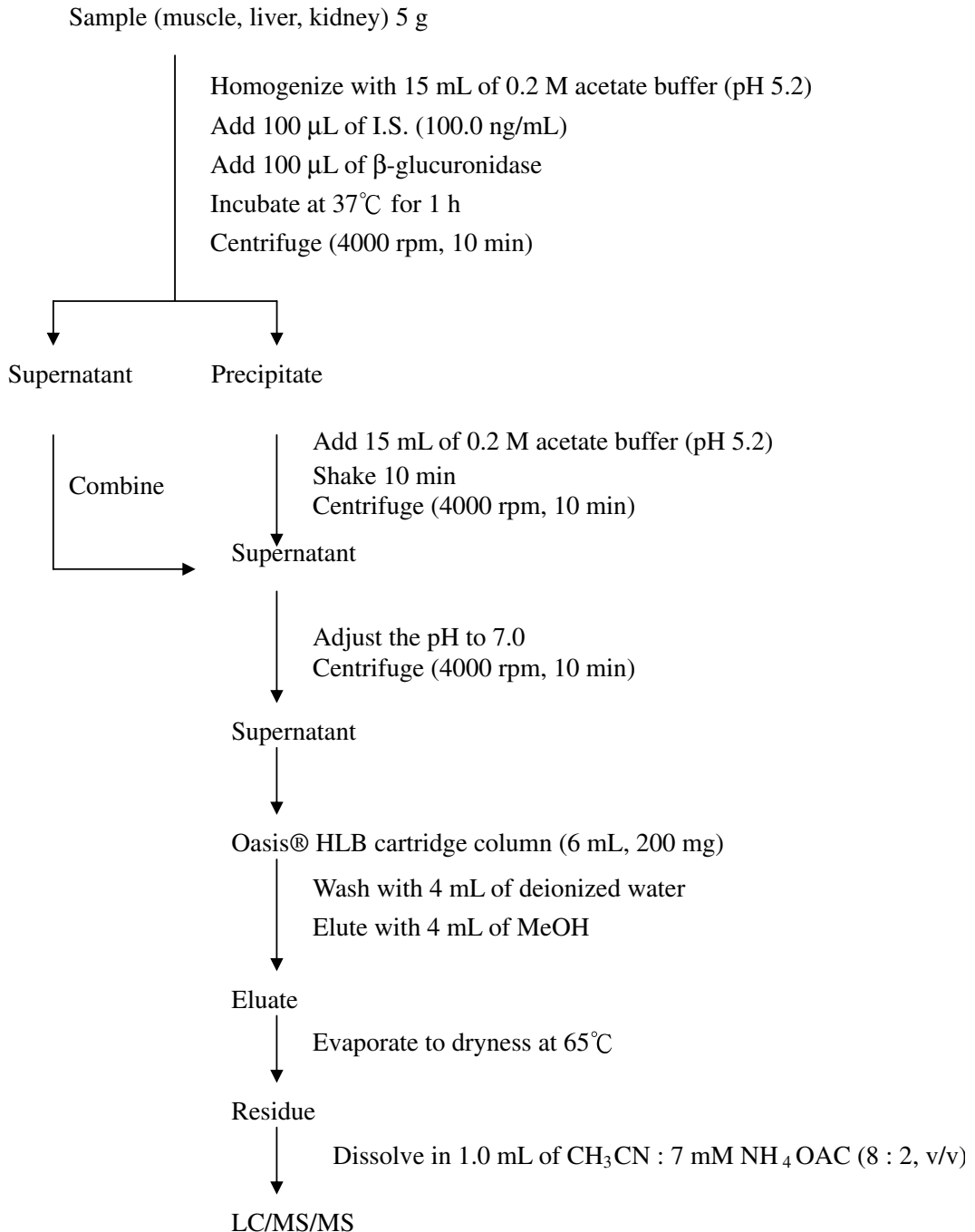
C：由檢量線求得檢液中 β -agonists之濃度(ng/mL)

V：檢體最後經定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

表二、液相層析儀分析條件

LC column	Varian Polaris Si-A (2.0 \times 50 mm, 3 μ m)
Mob= phase	CH ₃ CN : 7 mM NH ₄ OAC (85 : 15, v/v)
Flow rate	0.2 mL/min
Injecton volume	10 μ L
Analysis time	10 min

圖一、 β -Agonists 殘留之檢驗方法流程

七、品質管制分析

每批次檢體(少於15個樣品)於分析 β -agonists

時，分別作空白分析、添加混合標準溶液之添加樣品分析及重複分析。

表三、質譜儀分析條件

ESI mode	Positive
Capillary voltage	3.2 kV
Extractor	3.0
Source temperature	120°C
Desolvation temperature	450°C
Desolvation gas flow rate	600 L/hr
Cone gas flow rate	50 L/hr
LM 1 Resolution	15
HM 1 Resolution	15
Ion energy 1	1.0
Entrance	10
Exit	10
LM 2 Resolution	15
HM 2 Resolution	15
Ion energy 2	1.0
Multiplier (V)	650

結果與討論

一、品質管制分析

每批次畜禽產品(少於15個樣品)檢驗乙型受體素類殘留時，至少作一次空白分析、重複分析及添加樣品分析。本調查之空白分析值均在

方法檢出限量(method detection limit, MDL) 0.3 ppb以下(圖二)。本調查以鵝肉檢體添加5.0 ppb之salbutamol及ractopamine進行重複分析及添加樣品分析，添加樣品回收率之管制上值(upper control limit, UCL)及管制下值(lower control limit, LCL)分別訂為120%及60%，所得之添加樣品之salbutamol及ractopamine回收率分別為98.3~118.2%及86.0~114.0%，均在管制上下值之內(圖三)；變異係數百分比管制上值訂為30%，本調查所得之salbutamol及ractopamine變異係數百分比分別為0.6~18.0%及1.2~7.9%，均低於管制上值(圖四)。依據聯合國糧農組織/世界衛生組織(Food and Agriculture Organization of The United Nations/World Health Organization, FAO/WHO)之國際食品法典委員會(Codex Alimentarius Commission)⁽¹⁶⁾之規定，食品中動物用藥殘留值若介於1~10 ppb，回收率應介於60~120%，變異係數(coefficient of variation, CV)應小於30%，本調查之品質管制分析結果皆可符合Codex之要求。

二、市售畜禽產品中動物用藥 β -agonists殘留之檢測

97年度檢測市售豬肉10件、豬內臟6件、牛肉5件、鴨肉6件及鵝肉10件共37件。結果(表五)

表四、以質譜儀偵測之碰撞能量、離子片段及其比率

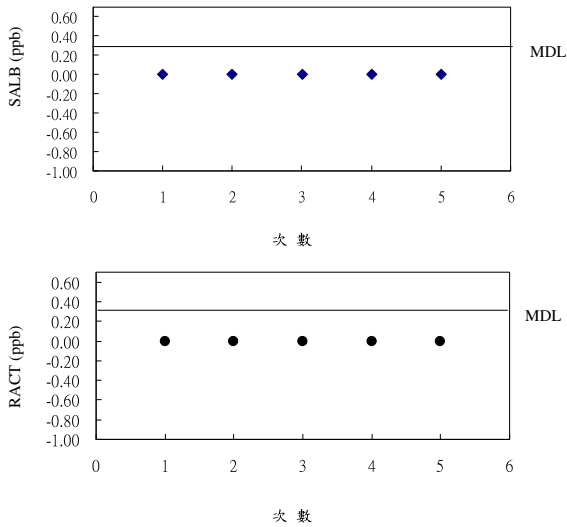
β -Agonists	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Relative intensity (%)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Clenbuterol	277	203 ^a	100	20	20
		259 ^b	29 (0.99) ^c	20	10
Terbutaline	226	152 ^a	100	20	20
		125 ^b	13 (5.59)	20	25
Salbutamol	240	222 ^a	100	20	15
		148 ^b	49 (3.29)	20	15
Ractopamine	302	164 ^a	100	20	25
		107 ^b	23 (1.47)	20	20
Clenbuterol -d ₉	286	204		20	20
Ractopamine -d ₅	307	167		20	15

a: MRM transition used for quantification

b: MRM transition used for confirmation

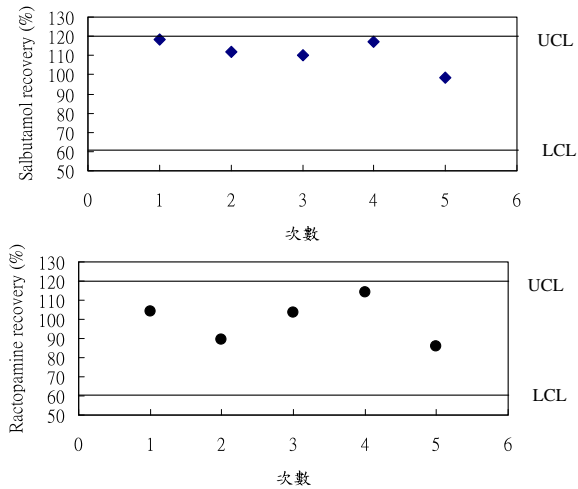
c: Value in parenthesis is the coefficient of variation (CV, %), N=3

市售畜禽產品中動物用藥乙型受體素類(β -Agonists)殘留量調查



圖二、乙型受體素類之空白分析管制圖

MDL: Method detection limit; SALB: salbutamol
RACT: ractopamine



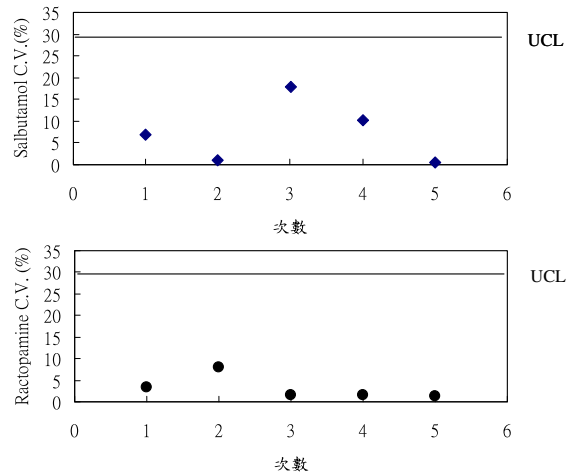
圖三、乙型受體素類之添加樣品管制圖

UCL: Upper control limit; LCL: Lower control limit

表五、97年市售畜禽產品中 β -Agonists殘留檢測結果

Category	No. of non-compliant samples	Ratç of non-compliant samples (%)	β -Agonist (ppb)
Duck muscle	1 (6) ^a	16.7	SALB ^b 0.47
Goose muscle	1 (10)	10.0	SALB 7.45
Pork	0 (10)	0	N.D. ^c
Swine liver	0 (6)	0	N.D.
Beef	0 (5)	0	N.D.
Total	2 (37)	5.4	

a: Total number of samples; b: SALB: salbutamol; c: N.D.: not detected



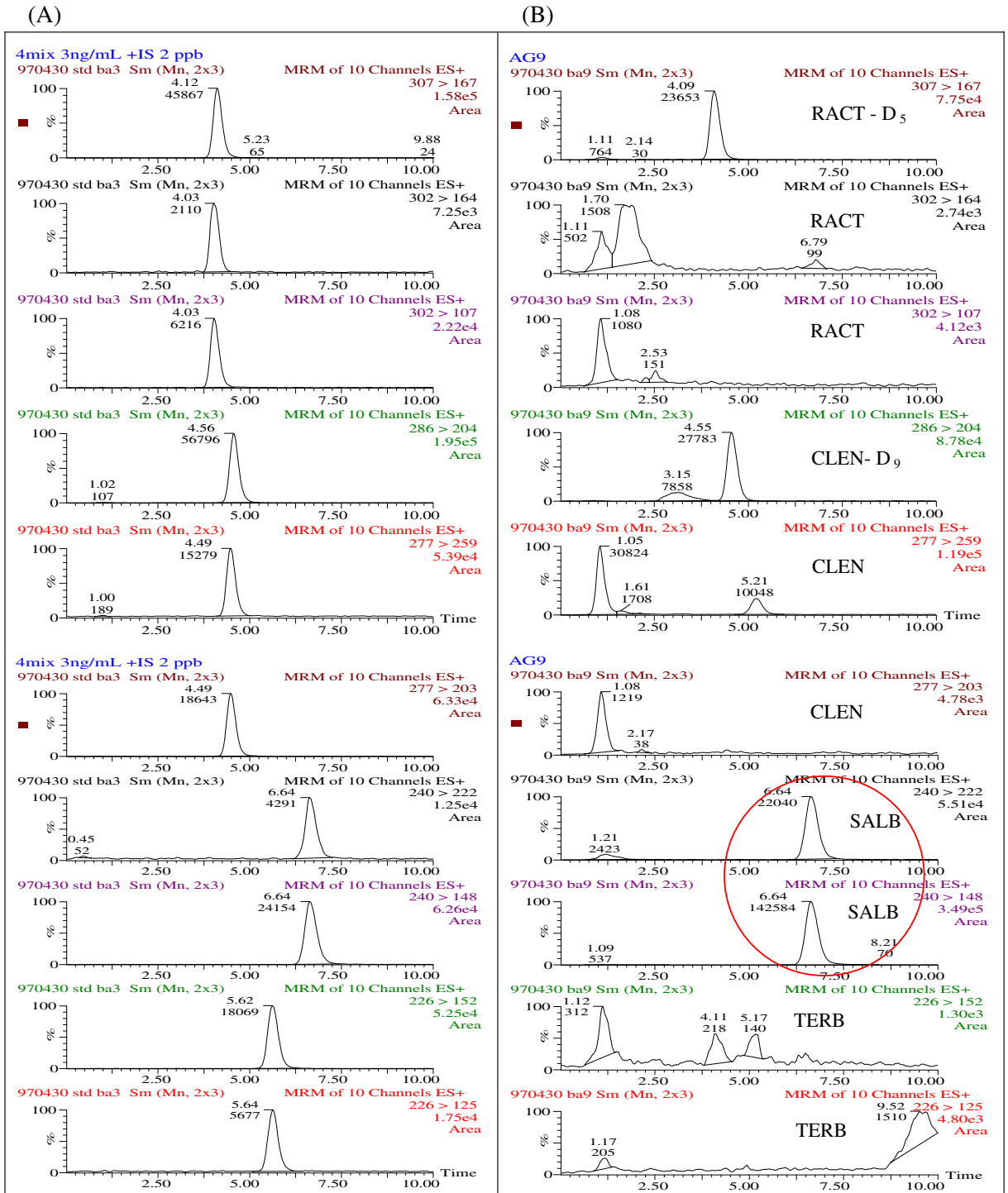
圖四、乙型受體素類之重複分析管制圖

UCL: Upper control limit

鴨肉及鵝肉各1件分別檢出salbutamol 0.47及7.45 ppb，與規定不符，不合格率5.4%。鵝肉檢出salbutamol之多重反應偵測層析圖譜見圖五。不符規定之檢體本局皆公布不合格食品資訊，並由地方衛生局移請農政單位卓辦。本調查顯示仍有業者違法使用乙型受體素類，有關單位仍須加強對業者之管理及輔導，同時應持續對市售產品進行監測。

參考文獻

1. 行政院衛生署。2007。瘦肉精的迷障。消費者資訊網電子月報。第一期2007.08.03。
2. Poletti, A. 1996. Bioanalysis of β_2 -agonists by hyphenated chromatographic and mass spectrometric techniques. J. Chromatogr. B 687:



圖五、鵝肉檢體檢出 salbutamol 7.45 ppb 之多重反應偵測層析圖譜

(A) Standards, (B) goose muscle

- 27-42.
3. Hanrahan, J. P. 1987. β -Agonists and their effects on animal growth and carcass quality. Elsevier Applied Science, Barking, Amsterdam.
 4. 行政院衛生署。2007。瘦肉精說分明。藥物食品安全週報，96: 1-2。
 5. Hahnau, S. and Julicher, B. 1996. Evaluation of commercially available ELISA test kits for the detection of clenbuterol and other β -agonists. Food Addit. Contam. 13(3): 259-274.
 6. Martinez-Navarro, J. F. 1990. Food poisoning related to consumption of β -agonist in liver. Lancet 336: 1311.
 7. Pulce, C., Lamaison, D., Keck, G., Bost Vironnois, C., Nicolas, J. and Descotes, J. 1991. Collective human food poisoning by clenbuterol residues in veal liver. Vet. Hum. Toxicol. 33(5): 480-481.
 8. 行政院衛生署。2007。瘦肉精的毒害。行政院衛生署消費者資訊網。[http://consumer.doh.gov.tw/fdaciw/pages/naderism_content.jsp?typeSn=4&listSn=47&sn=292&pageNo=1&prePageNo=1].
 9. 行政院衛生署。2007。瘦肉精Ractopamine 殘留容許量。行政院衛生署消費者資訊網。[http://consumer.doh.gov.tw/fdaciw/pages/naderism_content.jsp?typeSn=4&listSn=47&sn=291&pageNo=1&prePageNo=1].
 10. Lau, B. P. -Y., Lewis, D. and Lawrence, J. F. 1997. Confirmation analysis of clenbuterol in beef liver and minced beef by a combination of immunoaffinity chromatography and liquid chromatography/electrospray mass spectrometry or liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. J. Mass Spectrom. 32: 655-661.
 11. European Commission, Council Directive of 29 April 1996 (96/22/EC). [http://www.wetgiw.gov.pl/old/UE/prawo/96_22/e9622.pdf].
 12. USA FDA. 2007. NADA Number: 141-172. Actions Taken by FDA Center for Veterinary Medicine. November 15, 2006. pp. 8.57. [http://www.fda.gov/cvm/Green_Book/200612.pdf].
 13. USA FDA. 2007. NADA Number: 141-225. Actions Taken by FDA Center for Veterinary Medicine. December 15, 2007. pp. 8.51 [http://www.fda.gov/cvm/Green_Book/200712.pdf].
 14. USA GPO Access. 2008. § 556.570 Ractopamine. Electronic Code of Federal Regulations. [<http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=f302d5b4a3f288aaad40ba3a5924a6b3&rgn=div8&view=text&node=21:6.0.1.1.16.2.1.79&idno=21>].
 15. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. 2007. Codex Alimentarius Commission: Report of the 17th Session of the Codex Committee of Residues of Veterinary Drugs in Foods.
 16. Codex Alimentarius Commission. 2008. Veterinary Drug Residues in Food: Maximum Residue Limits. [http://www.codexalimentarius.net/mrls/vetdrugs/jsp/vetd_q-e.jsp].
 17. The Japan Food Chemical Research Foundation. 2007. Maximum Residue Limits (MRLs) List of Agricultural Chemicals in Foods. [<http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>].
 18. 行政院農業委員會。2006。公告動物用禁藥。95.10.11.農防字第09541473111號，台北市。
 19. 行政院衛生署。2008。動物用藥殘留標準。97.11.13.衛署食字第0970406969號，台北市。
 20. 蘇淑珠、周曉蕙、周薰修。2004。畜產品中動物用藥 β -agonists檢驗方法之建立。計畫編號：DOH93-FD-2030。
 21. 行政院衛生署。2005。食品中動物用藥殘留量檢驗方法—乙型受體素類多重殘留分析。94.08.22衛署食字第0949424412號公告，台北市。
 22. 曾素香、周珮如、陳素燕、蘇淑珠、周薰修。2007。市售禽畜產品中動物用藥乙型受體素類(β -agonists)殘留量調查。藥物食品檢驗局調查

研究年報，25: 255-259。
23. 周珮如、古遠丰、劉育綾、曾素香、李蕙芳、
蘇淑珠、施養志。2007。禽畜產品中乙型受體

素類(β -Agonists)檢驗方法之研究及殘留量調查。計畫編號：DOH96-FD-2016。

Survey on β -Agonists Residues in Marketed Meat and Poultry

WEI-CHENG LI, CHI-WEN HSIEH, PEI-JU CHOU, YUAN-FENG KU,
SHU-CHU SU AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Food Chemistry Division

ABSTRACT

A survey of β -agonists residues including clenbuterol, terbutaline, salbutamol and ractopamine in marketed meat and poultry was conducted in 2008. Thirty-seven samples, including 10 pork, 6 swine liver, 5 beef, 6 duck muscle and 10 goose samples, were obtained from retailers by local health personnel. Samples were analyzed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). The salbutamol was detected in one duck muscle (0.47 ppm) and one goose muscle (7.45 ppm) samples. Ratio of non-compliant samples is 5.4%. The result of this survey had been released to media.

Key words: β -Agonists, veterinary drugs, meat and poultry, LC/MS/MS