

市售萊克多巴胺快篩試劑檢驗效能之評估

許曉婷 周雅淳 曾衡宇 李科誼 黃志能
林汝青 張淑涵 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

萊克多巴胺(Ractopamine)屬乙型受體素(β -agonist)之一種，添加於動物飼料中，具增加禽畜動物之瘦肉比例、減少脂肪堆積以及增加動物飼料利用率等特性，故國際上有國家核准其可作為動物之飼料添加物，如美國、加拿大、澳洲等。目前國內食品中萊克多巴胺之檢驗係以衛生福利部公告之「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」進行檢測，該方法係將檢體經萃取、酵素水解、固相萃取淨化後，檢液以液相層析串聯質譜儀(Liquid chromatograph-tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析，並利用內部標準品校正後之基質匹配檢量線進行定量。另外，目前亦有市售萊克多巴胺快篩試劑可利用畜肉檢體之肉汁檢測是否含有萊克多巴胺。本次研究目的係檢視萊克多巴胺快篩試劑之檢測效能，將84件畜肉檢體分別以兩款萊克多巴胺快篩試劑(A款及B款)及公告檢驗方法進行測試，分析快篩試劑之靈敏度、專一性、偽陰性率及偽陽性率，並評估快篩試劑與公告檢驗方法檢測結果之一致性。結果顯示，A款試劑之靈敏度、專一性、偽陰性率及偽陽性率分別為71、100、29及0%；B款試劑分別為76、74、24及26%；此外，以Cohen's kappa (κ)係數評估兩款快篩試劑與公告檢驗方法檢測結果之一致性程度，結果顯示，A款試劑與公告檢驗方法檢測結果之一致性程度較B款試劑高。兩款快篩試劑之偽陰性率均有20%以上，惟偽陰性檢體所含萊克多巴胺介於0.001 - 0.004 mg/kg之間，皆未超過殘留容許量。倘此兩款快篩試劑應用於進口肉品，尚符合篩檢需求，惟快篩試劑產品係提供者對特定風險物質進行自主管理時參考使用，若檢驗結果有疑義，仍應以公告檢驗方法之檢驗結果為準。

關鍵詞：萊克多巴胺、快篩試劑、靈敏度、專一性、偽陰性率、偽陽性率、一致性程度

前 言

萊克多巴胺(Ractopamine)係屬乙型受體素(β -adrenoreceptor agonist or β -agonist)，可與乙型受體結合並活化之，具舒緩平滑肌的功能，起初為開發應用於治療人類的支氣管炎及氣喘⁽¹⁾，但效果不佳，由於該藥物缺乏選擇性，

皆會作用於氣管及心臟，導致不良副作用的產生，如：心悸、血壓上升、心律不整等症狀⁽²⁾，卻意外發現添加在動物飼料中，可增加禽畜動物之瘦肉比例、減少脂肪堆積以及增加動物飼料利用率等優點^(3,4)。部分乙型受體素應用於飼料添加物，因具有增加瘦肉比例、減少脂肪蓄積等優點，故在畜牧業又俗稱為瘦肉

精，常見的瘦肉精包括萊克多巴胺、沙丁胺醇(Salbutamol)及克倫特羅(Clenbuterol)等，其中毒性較強的克倫特羅及沙丁胺醇在國際上曾發生不當使用而造成中毒事件^(5,6)，由於萊克多巴胺對健康產生不良影響的風險較低，故國際上仍有國家核准其可作為動物之飼料添加物，如美國、加拿大、澳洲等國家。

聯合國食品法典委員會於2012年7月5日訂定萊克多巴胺在牛及豬之殘留容許量(肌肉及脂肪0.01 mg/kg、肝0.04 mg/kg、腎0.09 mg/kg)⁽⁷⁾，我國亦於同年9月11日發布修正「動物用藥殘留標準」第三條，增訂牛肌肉中萊克多巴胺之殘留容許量為0.01 mg/kg。另，又於109年9月17日增訂豬之萊克多巴胺殘留容許量(肌肉及脂肪0.01 mg/kg、肝0.04 mg/kg、腎0.04 mg/kg、其他可供食用部位0.01 mg/kg)。此外，自110年1月1日開放含萊克多巴胺之豬肉進口，使得萊克多巴胺成為社會關注的焦點，如何確保市售食品符合動物用藥殘留標準及維護消費者權益係極為重要的課題。

目前食品中萊克多巴胺之檢驗係以衛生福利部公告之「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」進行檢測，此方法雖能精確分析並定量，但需要專業人員及高階儀器進行檢測分析，故檢驗所需時間長且成本高；而市售萊克多巴胺快篩試劑雖無法定量，但檢測過程簡易，不需要繁瑣步驟，且短時間內即可判讀。

上述快篩試劑係應用免疫層析法(Immunochromatographic assay, ICA)進行檢測，其原理係藉由抗原與抗體間的免疫親和力及專一性的檢測方法，此方法不需高階昂貴的儀器設備，且操作流程快速簡單，然而，該快篩試劑與公告檢驗方法間的效能評估目前仍待釐清。故本次研究係透過公告檢驗方法之檢驗結果與兩款市售萊克多巴胺快篩試劑測試結果進行比較，分析其靈敏度、專一性、偽陽性率和偽陰性率。並透過Cohen's kappa (κ)係

數分析兩方法間是否具有相當程度之一致性(Agreement)，藉此有效地運用數據情資，進而檢視市售萊克多巴胺快篩試劑得否應用於業者自主管理以及主管機關在市售品篩檢上是否會造成風險及疑慮。

材料與方法

一、檢體來源

本次評估試驗畜肉檢體共84件，其中46件係由衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)北、中、南區管理中心、臺中市政府衛生局、臺北市政府衛生局、新北市政府衛生局、宜蘭縣政府衛生局、臺東縣衛生局及雲林縣衛生局提供，其餘38件在110年於臺北市之超市及大賣場購得。檢體處理分為公告檢驗方法及快篩試劑檢驗方法兩部分，公告檢驗方法之檢體處理，係將畜肉檢體細切均質後於-20℃冷凍貯存；快篩試劑檢驗方法之檢體處理，係將畜肉檢體切塊後於-20℃冷凍貯存。

二、材料與試劑

本研究兩款萊克多巴胺快篩試劑皆為國產產品(A款及B款)。Ractopamine hydrochloride (95%)(Sigma-Aldrich, USA)、Ractopamine-d₆ hydrochloride (98%)(Toronto Research Chemicals Inc., Canada)。

甲醇(液相層析級)、鹽酸(37%)及氨水(25%)(Merck Ltd., Germany)。醋酸鈉及醋酸鉍(試藥特級)(Nacalai Tesque Inc., Japan)。β-葡萄糖醛酸苷酶(含β-glucuronidase 85000 unit/mL)(Sigma-Aldrich, USA)。甲酸(90%)(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan)。

三、儀器設備與分析模式

本研究使用超高效液相層析儀(Ultra performance liquid chromatograph, UPLC)(Acquity UPLC® I class, Waters, USA)搭

配串聯質譜儀(Xevo® TQ-S micro, Waters, USA)，以電灑游離法正離子模式(positive ion electrospray ionization, ESI⁺)進行分析，同時搭配TargetLynx分析與數據處理系統。數據資料以多重反應偵測(Multiple reaction monitoring, MRM)模式進行收集。

四、試驗方法

(一)衛生福利部公告之乙型受體素類多重殘留分析方法

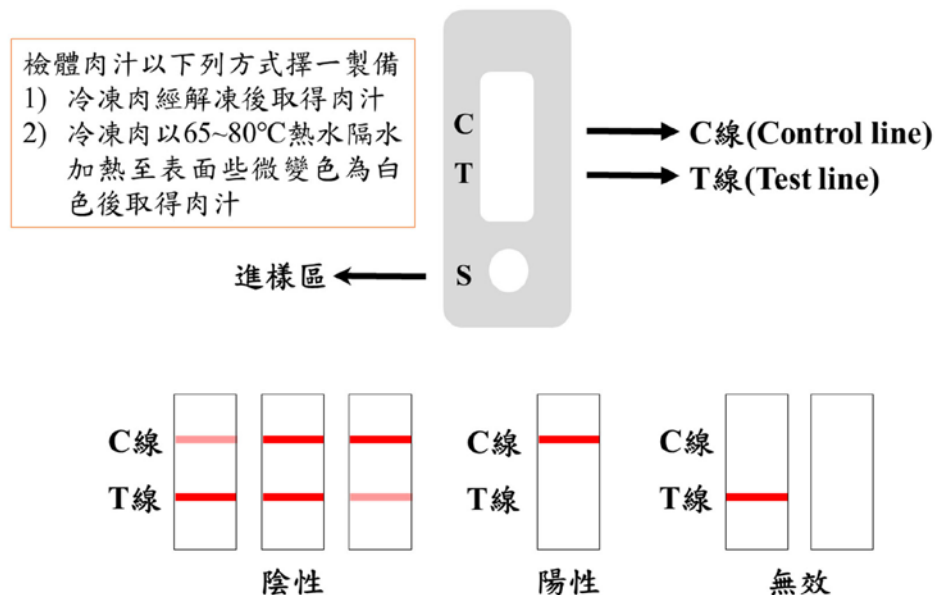
本次研究以衛生福利部公告之檢驗方法「食品中動物用藥殘留量檢驗方法－乙型受體素類多重殘留分析」⁽⁸⁾作為參考方法，係將檢體經酵素水解、萃取及固相萃取淨化後，以液相層析串聯質譜分析，並利用同位素內部標準品校正後之基質匹配檢量線執行定量。

(二)市售萊克多巴胺快篩試劑檢驗方法

本次評估使用國產A、B兩款萊克多巴胺快篩試劑產品進行，首先秤取約50 g的冷

凍肉品，靜置常溫解凍或以65~80℃熱水隔水加熱至表面些微變色為白色，即可取得肉汁。檢驗時滴入3-5滴(約100-150 µL)檢體肉汁樣本於進樣區中，靜置5~10分鐘後判讀結果，操作方式與結果判定皆依據原廠說明書所指示進行(如圖一)。本次針對快篩試劑進行以下兩種方式評估：

1. 將同一畜肉檢體分別以公告檢驗方法「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」及快篩試劑分析流程進行檢測結果比較，依檢驗結果計算快篩試劑之靈敏度(Sensitivity)、專一性(Specificity)、偽陽性率(False positive rate)及偽陰性率(False negative rate)。
2. 於未檢出萊克多巴胺之畜肉檢體肉汁中添加上述兩款快篩試劑所宣稱偵測極限(0.002 mg/kg)之萊克多巴胺標準品，再以快篩試劑進行檢測，檢視其產品宣稱之正確性。



圖一、萊克多巴胺快篩試劑檢驗流程與判讀方式

五、統計分析

不同檢測方法之間的結果一致性採用Cohen's kappa (κ)係數進行評估。Cohen's kappa (κ)係數的計算公式⁽⁹⁾如下：

$$\kappa = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

其中Po為兩方法檢測結果相同的比例；Pe則為獨立情況下，兩方法檢測結果相同的期望值。

由上述公式計算Cohen's kappa (κ)係數，並分為以下區間來表示不同程度的一致性：當 $\kappa < 0.4$ 時，表示一致性差；當 $0.4 < \kappa < 0.6$ 時，表示一致性中等；當 $0.6 < \kappa < 0.8$ 時，表示一致性良好；當 $\kappa > 0.8$ 時，代表兩方法之間具有極佳的一致性⁽¹⁰⁾。

結果與討論

一、畜肉檢體中萊克多巴胺之檢驗結果

實驗方法係將檢體經酵素水解及萃取後，以液相層析串聯質譜儀(LC-MS/MS)檢驗市售肉品之萊克多巴胺含量。本次抽驗件數包括牛肉(排) 68件、牛腱7件、牛肉片8件及其他肉品1件，總計84件。以公告檢驗方法之定量極限0.001 mg/kg為檢出標準，結果顯示，共50件檢體未檢出；其中檢出含萊克多巴胺之市售肉品分別為牛肉(排) 27件、牛腱3件和牛肉片4件(表一)。以上市售肉品檢出值範圍介於0.001

- 0.01 mg/kg之間，皆符合衛生福利部訂定之「動物用藥殘留標準」，牛、豬肌肉中萊克多巴胺殘留容許量需低於0.01 mg/kg⁽¹¹⁾。

二、市售萊克多巴胺快篩試劑與公告檢驗方法檢測結果之比較

本研究以公告檢驗方法作為實驗之標準參考方法，分別評估國產A、B兩款萊克多巴胺快篩試劑產品的檢驗效能。結果發現，由公告檢驗方法檢出萊克多巴胺的34件檢體中A款快篩試劑有24件驗出結果為陽性，檢測靈敏度為71%；而B款快篩試劑有26件驗出結果為陽性，靈敏度達76%，顯示B款快篩試劑的檢測能力略優於A款。而專一性方面，在50件未檢出的檢體中A款快篩試劑的陽性結果為0件，顯示其檢測專一性為100%，且無偽陽性結果出現；另B款的專一性和偽陽性率則分別為74%和26% (表二)。

表一、牛肉等檢體以公告檢驗方法採LC-MS/MS檢測之結果

結果	件數				
	牛肉(排)	牛腱	牛肉片	其他	合計
檢出 ^a	27	3	4	0	34
未檢出	41	4	4	1	50
總件數	68	7	8	1	84

^a 以公告檢驗方法之定量極限0.001 mg/kg為檢出標準。

表二、萊克多巴胺快篩試劑之檢測靈敏度、專一性、偽陽性率與偽陰性率之比較

產品代號	公告方法LC-MS/MS檢測結果 ^a	快篩試劑檢測(件)		靈敏度(%) (Sensitivity)	專一性(%) (Specificity)	偽陽性率(%) (False positive rate)	偽陰性率(%) (False negative rate)
		陽性	陰性				
A	檢出	24	10	71%	100%	0%	29%
	未檢出	0	50				
B	檢出	26	8	76%	74%	26%	24%
	未檢出	13	37				

^a 以公告檢驗方法之定量極限0.001 mg/kg為檢出標準。

三、萊克多巴胺快篩試劑宣稱之偵測極限測試結果

使用萊克多巴胺標準品對市售萊克多巴胺快篩試劑進行效能試驗的評估。方法為添加萊克多巴胺標準品至經液相層析串聯質譜儀分析未檢出的檢體之肉汁中，使其濃度達A、B兩款快篩試劑所宣稱之偵測極限0.002 mg/kg，並進行兩款快篩試劑之檢測。結果如下，A款快篩試劑共測試43件檢體，分別檢出陽性40件、陰性3件，檢測陽性率為93%；另B款快篩試劑共測試22件檢體，檢測結果皆為陽性，在偵測極限之濃度下檢測陽性率達100%。

四、評估萊克多巴胺快篩試劑與公告檢驗方法之一致性程度

萊克多巴胺快篩試劑的檢測原理為免疫層析法，檢測結果仍有偽陰性和偽陽性的發生。為進一步驗證不同廠牌之萊克多巴胺快篩試劑的檢驗效能，本研究採用Cohen's kappa (κ)統計方法判定兩款快篩試劑與公告檢驗方法之間試驗結果的一致性程度(Agreement)。結果發現，A款快篩試劑的 κ 值為0.74，表示該款快篩試劑與公告檢驗方法之間具有良好的一致性；而B款快篩試劑的 κ 值則為0.49，顯示其與公告檢驗方法之間的一致性中等。綜上所述，A款萊克多巴胺快篩試劑與乙型受體素公告檢驗方法檢測結果一致性程度較高，且其專一性優於B款。

依本次調查結果顯示，A、B兩款萊克多巴胺快篩試劑與公告檢驗方法之間的一致性均達中等以上，但此方法仍無法避免有偽陰性的結果，由表二中靈敏度和專一性的測試結果指出A、B兩款快篩試劑偽陰性率分別為29%及24%。進一步分析兩款快篩試劑測試呈偽陰性之檢體，由液相層析串聯質譜儀分析其萊克多巴胺含量皆介於0.001 - 0.004 mg/kg之間，其中A款快篩試劑偽陰性檢體實際檢測值為0.001

mg/kg共計4件，0.002 mg/kg有3件，0.003 mg/kg有2件，0.004 mg/kg有1件，而B款快篩試劑偽陰性檢體檢測值為0.001 mg/kg共計3件，0.002 mg/kg有2件，0.003 mg/kg有2件，0.004 mg/kg有1件。雖A、B兩款快篩試劑之偽陰性率均有20%以上，但經公告方法檢驗尚符合動物用藥殘留標準，且均為進口肉品而非國產。倘此兩款快篩試劑應用於篩檢國外進口肉品，尚符合篩檢需求。綜上，雖快篩試劑無法進行準確定量、測試基質種類也受限制，但因其操作流程簡單、快速且不須專業人員操作，適合提供業者對特定風險物質進行自主管理時參考使用，倘若檢驗結果有疑義，仍應以公告檢驗方法之測定結果為準。

致 謝

本研究之檢體部分係由食藥署北、中、南各區管理中心、臺中市政府衛生局、臺北市政府衛生局、新北市政府衛生局、宜蘭縣政府衛生局、臺東縣衛生局及雲林縣衛生局協助抽驗提供，謹致謝忱。

參考文獻

1. Horita, N., To, M., Araki, K., Haruki, K. and To, Y. 2012. Risk factors of local oropharyngeal and laryngeal adverse effects from use of single inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists. *Allergol. Int.* 61(4): 583-588.
2. Salpeter, S., Ormiston, T. and Salpeter, E. 2004. Cardiovascular effects of β -agonists in patients with asthma and COPD: a meta-analysis. *Chest* 125(6): 2309-2321.
3. Yen, J. T., Mersmann, H. J., Hill, D. A. and Pond, W. G. 1990. Effects of ractopamine on genetically obese and lean pigs. *J. Anim. Sci.* 68(11): 3705-3712.

4. Mills, S. E. 2002. Biological basis of the ractopamine response. *J. Anim. Sci.* 80: E28-E32.
5. Salleras, L., Domínguez, A., Mata, E., Taberner, J. L. and *et al.* 1995. Epidemiologic study of an outbreak of clenbuterol poisoning in Catalonia, Spain. *Public Health Rep.* 110(3): 338-342.
6. Barbosa, J., Cruz, C., Martins, J., Silva, J. M. and *et al.* 2005. Food poisoning by clenbuterol in Portugal. *Food Addit. Contam.* 22(6): 563-566.
7. Codex Alimentarius Commission. 2012. Joint FAO/WHO Standards Programme Codex Alimentarius Commission, Thirty-fifth Session. FAO Headquarters. Rome, Italy. REP12/CAC. [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-701-35%252FREP12_CACe.pdf].
8. 衛生福利部。2019。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。108.05.09衛授食字第1081900642號公告修正。
9. Cohen, J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Meas.* 20: 37-46.
10. McHugh, M. L. 2012. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem. Med.* 22(3): 276-282.
11. 衛生福利部。2020。動物用藥殘留標準。109.09.17衛授食字第1091303002號公告修正。

Evaluation of Commercial Ractopamine Rapid Test Kits

HSIAO-TING HSU, YA-CHUN CHOU, HENG-YU TSENG, KO-YI LEE,
CHIH-NENG HUANG, NU-CHING LIN, SHU-HAN CHANG, YA-MIN KAO,
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Ractopamine is a type of β -agonists, commonly used as an animal feed additive to improve leanness, reduce fatty buildup, and increase food conversion efficiency. This animal feed additive is approved in several countries, including the United States, Canada and Australia. In Taiwan, testing for ractopamine in food is performed by the “Method of Test for Veterinary Drug Residues in Foods–Test of Multiresidue Analysis of β -Agonists” published by the Ministry of Health and Welfare. In this method, β -agonists including ractopamine in the samples was extracted, enzymatically hydrolyzed, purified by solid phase extraction, analyzed over a liquid chromatograph–tandem mass spectrometer (LC-MS/MS), and finally quantified using matrix-matched curves calibrated with internal standards. Commercial rapid test kits are available to test whether the meat juice of livestock products contains ractopamine as well. In this study, 84 animal muscle samples were tested for ractopamine using two commercial rapid test kits, namely brand A and brand B, and the results were compared with the official method to evaluate the sensitivity, specificity, false negative and false positive rates. The sensitivity, specificity, false negative rate and false positive rate of the brand A kit were 71, 100, 29 and 0%, respectively, and those of brand B kit were 76, 74, 24 and 26%, respectively. Additionally, Cohen’s kappa was subsequently employed to evaluate the agreement of kit results with the official method. The brand A kit exhibited a higher level of agreement with the official method than the brand B kit did. Both brands yielded false negative rates of more than 20% while the ractopamine contents were in the range of 0.001 - 0.004 mg/kg, which were lower than the maximum residue limit. The results suggested that both brands of the test kits are adequate for imported meat products. However, users should bear in mind that commercial rapid test kits are designed for business operators to independently test the content of specific substances for potential hazards. As such, the results of test kits are for reference only. When in doubt, users should adhere to the official results.

Key words: ractopamine, rapid test kit, sensitivity, specificity, false negative rate, false positive rate, agreement