

# 瘦肉精类药物检测方法研究进展

孙悦,王慧利,王学东,李捷意\*

(苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏苏州215009)

**摘要:**瘦肉精类药物是食品安全领域的一大严峻问题,如何高效快速地检测这类药物成为有效监管的重要环节。归纳总结了近年来此类药物残留量的标准检测方法以及在此基础上研发出来的改进方法和新型检测技术,包括前处理方法和后续检测技术。前处理方法主要介绍了固相萃取、固相微萃取、基质固相分散萃取及分子印迹等技术;检测技术概括了色谱检测、免疫分析及多种新型技术。通过分析性能指标数据说明各类检测方法的优缺点,指出检测技术将逐渐向多种分析物同时检测、现场快速检测、痕量(或超痕量)污染物检测等方向发展。

**关键词:**瘦肉精;检测方法;前处理;分析效能

中图分类号:TS251.7

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2021)S-0355-07

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2021.S.075

## Research progress on detection methods for clenbuterol drugs

SUN Yue, WANG Hui-li, WANG Xue-dong, LI Jie-yi\*

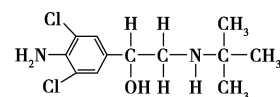
(School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

**Abstract:** Detection of clenbuterol drugs is a key problem in the field of food safety. How to detect such drugs efficiently and quickly has become an important link for the effective supervision in this field. This paper summarizes the standard detection methods, the improved methods and new detection techniques for residue amount of this kind of drugs in recent years, including pretreatment methods and subsequent detection techniques. Among pretreatment methods, solid phase extraction, solid phase microextraction, matrix solid phase dispersion extraction and molecular imprinting are reviewed. The detection technologies such as chromatographic spectrum detection, immunoassay and many new technologies are also introduced. The advantages and disadvantages of various detection methods are explained by analyzing the performance index data. It is pointed out that the detection technologies for clenbuterol drugs will develop gradually towards simultaneous detection of various analytes, rapid detection on the spot, detection of trace (or super trace) pollutants.

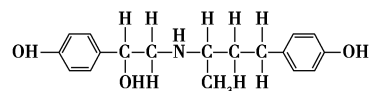
**Key words:** clenbuterol; detection method; pretreatment; analytical efficacy

近年来,食品安全问题不断出现,其中瘦肉精是食品公共安全事件中产生危害较为严重的一类药物,它们常被作为饲料添加剂促进瘦肉生长、抑制肥肉生长。瘦肉精类药物包括莱克多巴胺(ractopamine, RAC)、盐酸克伦特罗(clenbuterol, CLB)、沙丁胺醇(salbutamol, SAL)、溴布特罗(brombuterol, BBT)、溴代克伦特罗(bromchlorbuterol, BCT)、氯丙那林(clorprenaline, CLP)、特布他林(terbutaline, TBL)、马步特罗(mabuterol, MABU)等。该类药物为一种 $\beta$ -兴奋剂,能使动物肾上腺类神经兴奋,尤其是最常用的RAC,其熔点高达161 $^{\circ}\text{C}$ ,化学性质稳定,需要在172 $^{\circ}\text{C}$ 下加热才能够分解,在动物饲料中使用后在机体组织中残留量高,若人类食用则会危害身体健康,引起多种疾病<sup>[1-3]</sup>。虽然我国农业法规明

确规定不可使用该类药物,但受利益驱使,使用瘦肉精的非法行为依然存在。在瘦肉精类药物中,CLB(分子结构见图1a)和RAC(分子结构见图1b)的药效显著且价格便宜,在养殖业中使用最多,故本文主要阐述这两种药物检测方法的研究进展。



(a) 盐酸克伦特罗 (CLB)



(b) 莱克多巴胺 (RAC)

图1 CLB和RAC的分子结构

收稿日期:2021-03-23;修回日期:2021-05-19

基金项目:苏州市科技局项目(SNG2018051)

作者简介:孙悦(1997-),女,硕士生,主要研究方向为环境分析化学,783908561@qq.com;李捷意(1989-),男,硕士,讲师,主要从事生物分析测试工作,通讯联系人,100913915@qq.com。

目前,对于瘦肉精类药物分析技术的开发研究主要集中在前处理和检测技术两方面。由于样品基质非常复杂,含有大量的大分子干扰物质,如果在检测前没有对干扰物质进行净化,将会显著影响后续检测的准确性和灵敏度。因此,分析技术开发除需选择准确、高效的检测方法外,还需对样品的前处理技术进行筛选和优化。

## 1 前处理方法

前处理技术主要有固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)、基质固相分散萃取(MSPD)和分子印迹(MIT)等技术<sup>[4]</sup>。

### 1.1 SPE 技术

SPE 技术能够提高样品处理量、样品回收率,同时减少有机溶剂的使用量,降低多种基质对于分析结果的干扰<sup>[4]</sup>。潘胜东等<sup>[5]</sup>采用混合型阳离子交换固相萃取(MCX)法对样品进行提取净化,该方法高效结合了 HLB 和 SCX 固相萃取柱的优点,对 4 种  $\beta_2$ -兴奋剂的回收率为 88.2%~98.2%,检出限(LODs)低至 0.03~0.08  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,相对标准偏差(RSDs)为 1.1%~8.3%,有效地降低了后续测定过程中的基质干扰效应。曾绍东等<sup>[6]</sup>利用 SPE 柱富集、浓缩和净化 RAC、SAL 和 CLB,结合高效液相色谱紫外检测器,获得的瘦肉精 LODs 均小于 0.1  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,定量限(LOQs)约为 0.2  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,平均回收率为 80.9%~113.0%,RSDs 为 4.5%~7.6%,与原农业部 1025 号公告-11-2008 以及 1063 号公告-3-2008 的标准检测方法(均无 SPE)相比较,可有效减少有机溶剂的使用量,缩短检测时间,说明该前处理方法具有灵敏度高、快速、简单、准确等优点。虽然常规 SPE 具有上述优点,但仍存在选择性差、无法在复杂的基质样品中有效去除杂质干扰等问题。分子印迹固相萃取(MIP-SPE)则将两种技术有机地结合,通过物理性质及识别位点对目标检测物进行识别,实现了选择性萃取和富集目标分析物,去除其他干扰基质的影响。王培龙等<sup>[7]</sup>运用 MIP-SPE 前处理方法,对猪尿液中的 4 种  $\beta$ -兴奋剂进行检测,LODs 均低于 0.5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,回收率高达 75.1%~97.5%,RSDs<10%,有效去除了尿液样品基质对检测结果的影响,提高了检测的准确度和灵敏性,同时对 MCX 固相萃取,前者应用 GC-MS 测定的信噪比高于后者。在线固相萃取技术(on-line SPE)也是近年来发展起来的全自动样品前处理技术,可有

效减少样品前处理步骤,不同于标准 SPE, on-line SPE 小柱可重复进样,降低了成本,并且还减少了人为误差,分析效率大大提高。马俊美等<sup>[8]</sup>将 on-line SPE 技术运用于猪肉和羊肉中 10 种  $\beta$ -受体激动剂的定性和定量检测,从萃取净化到完成分析只需 12 min,LODs 为 0.004~0.040  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,LOQs 为 0.02~0.20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,RSDs 小于 10%,回收率为 76.5%~107.7%。SPE 技术的核心是对样品材料的吸附,而纳米材料恰好具有这样独特的性质。李冰等<sup>[9]</sup>使用多壁碳纳米管及其改性材料对瘦肉精进行吸附,采用 SPE 富集和净化样品,在 10 min 的萃取时间内该技术对各类瘦肉精的回收率在 90.1%~105.9%。

### 1.2 SPME 技术

SPME 技术是利用萃取纤维对分析物进行萃取富集,有萃取效率高、选择性强、环保绿色等优点。根据样品和目标物的特性可以分为顶空法和直接浸入法,是适用于实验室现场样品检测的前处理技术<sup>[10]</sup>。梁亚莉等<sup>[11]</sup>采用 SPME 技术提取猪尿中的 CLB,经过顶空衍生后用 GC-MS 测定,并对萃取条件和衍生条件进行优化,采用聚丙烯酸酯纤维(PA)吸附 CLB,吸附性好,获得的加标回收率为 82.0%~87.7%,LODs 为 0.5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,RSDs 为 3.9%~6.8%,方法快速、准确度高,并能实现自动化的萃取衍生。Aresta 等<sup>[12]</sup>首次利用聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)包裹纤维,建立了 SPME-LC-UV 法测定人尿和血清中的 CLB,得出日内和日间尿液中 RSDs 为 5.0%~5.3%和 8.5%~8.7%,LODs 和 LOQs 分别为 9 和 32  $\mu\text{g}/\text{L}$ ;血液中的 RSDs 为 5.5%~5.9%和 8.7%~9.1%,LODs 和 LOQs 分别为 5 和 24  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,远低于尿液和血清中 CLB 通常水平。Du 等<sup>[13]</sup>提出 SPME 结合 HPLC-UV 同时测定 3 种瘦肉精,对影响萃取效率的主要参数进行了优化,得出 CLB 和 RAC 在 0.5~50  $\mu\text{g}/\text{L}$  范围内呈良好的线性关系,SAL 在 0.2~20  $\mu\text{g}/\text{L}$  范围内呈良好的线性关系,LODs 为 0.05  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,CLB 和 RAC 的 LODs 均为 0.1  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,该方法简便快速,准确度高、回收率较好、有机溶剂消耗量少。Gao 等<sup>[14]</sup>提出一种利用氧化石墨烯(GO)修饰中空纤维的 SPME 新方法,GO 吸附性好,具有高比表面积,中空纤维具有良好的机械强度、热稳定性和化学稳定性,将两者结合用于 RAC 和 CLB 的预浓缩,富集度高、成本低、使用有机溶剂少,平均回收率分别为 85.8%~109.8%和 78.8%~101.4%,LODs 分别为 0.01 和 0.03

$\mu\text{g/mL}$ , LOQs 分别为 0.03 和 0.08  $\mu\text{g/mL}$ 。这种新方法使用低毒、低挥发性化学品,减少了溶剂消耗,符合近年来分析化学的发展趋势。然而由于 SPME 纤维的机械脆性,只能将纤维引入液体样品中,如果直接将纤维引入固体或半固体样品中,纤维很容易断裂。针对这类问题, Ye 等<sup>[15]</sup>首次建立了直接浸泡 SPME-GC/MS 法快速分析猪肉中的瘦肉精,采用自制的低成本 44  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷(PDMS)纤维提取猪肉中的瘦肉精,提取后将纤维悬浮在含 100  $\mu\text{L}$  饱和六甲基二硅氮烷蒸汽的 2 mL 样品瓶中,进行顶空衍生,最后进行 GC-MS 分析,得到 LODs 为 3.6  $\mu\text{g/kg}$ ,线性范围为 10~1 000  $\mu\text{g/kg}$ ,应用于实际加标猪肉样品中回收率为 97.4%~105.7%。与传统的溶剂萃取法相比,该方法成本低、速度快、环保。近年来针对 SPME 又研发了新型的萃取模式,孙清荣等<sup>[16]</sup>研发了以聚(甲基丙烯酸-乙二醇二甲基丙基酸酯) [P(MAA-co-EGDMA)] 整体柱材料为萃取介质的聚合物整体微萃取(PMME)技术,结合 HPLC-MS 对猪肉中 CLB 和 RAC 进行检测,加标回收率在 88.9%~105.0%, LOQs 分别为 0.05 和 0.5  $\mu\text{g/kg}$ , RSDs 均 $<10\%$ 。该方法具有操作简单、灵敏度高、试剂用量少等特点,可用于食品样品中痕量污染物的检测。

### 1.3 MSPD 技术

MSPD 是将样品匀质化、提取和净化过程集中在一步的一种前处理方法,具有操作简单、提取效率高、溶剂用量少等特点。鲁立良等<sup>[17]</sup>将 MSPD 方法用于肉肠样品的前处理过程,并结合同位素稀释技术建立了 MSPD/HPLC-MS 方法,检测 RAC、SAL、CLB 和 TBL 4 种瘦肉精类药物, SAL 和 CLB 的 LODs 均为 0.10  $\mu\text{g/kg}$ , RAC 和 TBL 的 LODs 均为 0.15  $\mu\text{g/kg}$ , RSDs 小于 10%,方法添加回收率为 80.0%~109.0%。该方法回收率高、选择性好,非常适合于肉肠中痕量瘦肉精类药物的检测。张旖等<sup>[18]</sup>采用 MSPD-HPLC/MS 技术快速测定肉样中 10 种瘦肉精类药物,得到 CLB 的 LOQs 为 0.05  $\mu\text{g/kg}$ ,其余 9 种的 LOQs 均为 0.5  $\mu\text{g/kg}$ ,10 种化合物在猪肉、肠衣、午餐肉中的平均回收率分别为 85.6%~118.4%、85.6%~119.3% 及 80.4%~118.4%, RSDs 分别为 1.47%~14.4%、2.45%~15.4% 和 1.04%~12.5%。Tao 等<sup>[19]</sup>建立了 MSPD-HPLC/MS 法同时测定猪饲料中 11 种瘦肉精类药物,并对影响吸附剂吸附和净化效果的主要因素进

行了优化,在最优的实验条件下,获得 CLB 的 LOQs 为 1.0  $\mu\text{g/kg}$ , RAC 的 LOQs 为 2.0  $\mu\text{g/kg}$ ,加标回收率 $>83.1\%$ , RSDs $<9.3\%$ 。Zhu 等<sup>[20]</sup>制备了一种反相/弱阳离子交换混合模式硅基吸附剂,将其作为 MSPD 的分散剂,从猪肝中提取 CLB 和 RAC,与通常的吸附剂相比,这类吸附剂具有较高的回收率和较好的净化能力,两种目标物的线性范围均在 0.04~8.0  $\mu\text{g/g}$  内,加标回收率为 92.5%~105.0%, RSDs 小于 6.6%。从近年来开发的各种 MSPE 前处理技术来看,亮点主要集中在开发各种特异功能纳米吸附材料用于有机物的吸附和提取,研发方向为制备出萃取能力更好、净化能力更强的吸附剂以满足绿色化学的要求。

### 1.4 MIT 技术

MIT 是利用分子印迹聚合物(MIPs)模拟酶和底物或者抗体和抗原之间的相互作用,对模板分子进行选择识别。因分子印迹聚合物对目标分析物具有高亲和力和选择性,在生物检测方面得到广泛使用。Du 等<sup>[21]</sup>以类似物 SAL 为模板材料,合成了选择性吸附 RAC 的分子印迹聚合物, RAC 在虚拟模板上的饱和吸附容量为 90.9  $\mu\text{g/g}$ ,在猪肉样品中 RAC 的重复性 RSDs 为 1.9%~6.3%, LODs 为 0.02  $\mu\text{g/kg}$ 。为避免 MIT 技术的模板泄露问题,采用虚拟模板,虽然该模板对 RAC 有较高的选择性吸附,但该模板对 SAL 的吸附性高于 RAC,解决此类问题的方法还未完善,因此需要在这方面进行更多的探索。杨挺等<sup>[22]</sup>以 RAC 为模板分子,制备了 CLB 硅胶表面分子印迹材料,该材料对 RAC 的吸附量为 11.08 mg/g,特异性吸附容量为 9.93 mg/g,吸附平衡时间为 10 min,洗脱时间为 5 min。该研究采用了硅胶材料,因其具有良好的机械性能和热稳定性,用其为基质制备的分子印迹材料特异性强、结合性好、吸附量高。Wang 等<sup>[23]</sup>制备了新型分子印迹聚合物微球,用于选择性吸收 CLB 和 RAC 等 5 种瘦肉精类药物,结合 UPLC-MS 检测, LODs 均小于 0.02  $\mu\text{g/kg}$ ,平均加标回收率和重复性分别为 70.0%~116.0% 和 2.5%~10.4%,该方法所合成的模板化合物消除了模板泄露对目标分析物测定干扰的问题,故具有选择性较高、操作简单、成本低廉等优点。Xiao 等<sup>[24]</sup>利用利托君作为虚拟模板分子制备分子印迹聚合物,因其与 RAC 有相似的骨架结构,将该模板分子作为吸附剂进行固相萃取选择性吸附 RAC,在最佳条件下, LODs 为 3.1~4.3  $\mu\text{g/L}$ ,

加标猪肉和猪肝的回收率分别为 72.4%~79.7% 和 71.0%~78.2%, RSDs 为 7.4%~13.0%。该方法灵敏度高、选择性好,在复杂的样品基质中能够实现微量瘦肉精的定量检测。上述研究多是基于虚拟模板

制备分子印迹聚合物,制备的材料对分析物的特异性较差,如何提高该类技术的特异性和吸附效率等问题,仍是今后需要深入探讨的内容。

检测瘦肉精的常规前处理方法对比见表 1。

表 1 检测瘦肉精的常规前处理方法对比

方法	样品	检测对象	回收率/%	检出限	定量限	相对标准偏差/%	文献
SPE 技术	猪肉、牛肉、猪肝和牛肝等肉制品	CLB、RAC、TBL、SAL	88.2~98.2	0.03~0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	—	1.1~8.3	[5]
	猪尿液	RAC、SAL、CLB	80.9~113.0	0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	4.5~7.6	[6]
	猪尿液	CLB、RAC、CLP、MABU	75.1~97.5	<0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	—	<10	[7]
SPME 技术	猪尿液	CLB	82.0~87.7	0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	—	3.9~6.8	[11]
	牛肉	RAC、CLB	85.8~109.8, 78.8~101.4	0.01、0.03 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.03、0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	—	[14]
	猪肉	RAC、CLB	89.9~105.0, 88.9~105.0	—	0.5、0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<10	[16]
MSPD 技术	猪饲料	RAC、CLB	>83.1	—	2.0、1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<9.3	[19]
	猪肝	RAC、CLB	92.5~105.0	—	—	<6.6	[20]
MIT 技术	猪肉	CLB、RAC、BBT、CLP、BCT	70.0~116.0	<0.02 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	—	—	[23]
	猪肉和猪肝	RAC	72.4~79.7, 71.0~78.2	—	—	7.4~13.0	[24]

## 2 检测方法

### 2.1 色谱检测法

在瘦肉精的残留分析中,农业部规定了两种仪器测定的标准方法(NY/T 468—2001),即 HPLC-UV 和 GC-MS 仪器。其中 HPLC-UV 检测多作为瘦肉精的半确证性方法,优点是检测精确度高、假阳性率低,缺点是检测过程烦琐、检测时间长;将 GC-MS 法定为检测瘦肉精的确证性方法,其优点是能在多种残留物同时存在的情况下对某种特定的残留物进行定性、定量分析。GC-MS 法与 HPLC 法相比,检测灵敏度更高、假阳性率更低。除此之外,色谱法还有 HPLC-MS、毛细管电泳法(CZE)等。

王权帅等<sup>[25]</sup>利用 SPE-GC/MS 同时检测猪肉中 4 种瘦肉精的残留量,在不同浓度的组合下,低浓度的加标回收率为 75.5%~82.5%,中浓度组的加标回收率为 77.2%~84.3%,高浓度组的加标回收率为 79.7%~89.6%,方法 LODs 为 0.4~0.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQs 为 1.3~2.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,精密密度范围在 2.5%~4.2%,得到的数据均满足痕量残留分析的技术需求。姚德祥等<sup>[26]</sup>采用 GC-MS 测定动物肝脏中的 3 种瘦肉精残留量,3 种瘦肉精在 17.5 min 内得到良好的分离,平均加标回收率在 85.4%~106.7%,RSDs 在 4.9%~10.5%之间,回收率和日内

及日间精密度均符合方法学要求。Yan 等<sup>[27]</sup>建立了一种快速简便的 HPLC-UV 法检测猪肉中的 3 种瘦肉精,在 20 min 内实现了分析物的快速分离,线性范围在 0.2~50  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,相关系数>0.99, RSDs<3%, LODs 均<0.05  $\text{mg}/\text{L}$ 。岳韩笑等<sup>[28]</sup>在 GC-MS 上做了改进,采用同位素稀释质谱法检测猪肉中 4 种瘦肉精,同位素内标减少了样品在前处理等步骤里产生的误差,提高了样品的回收率,消除了复杂基质的干扰,回收率为 92.2%~112.8%,相关系数 $\geq$ 0.999 7, LODs 在 0.13~0.41  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, LOQs 在 0.40~1.27  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间,并且 LODs 低于国标要求的 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。但由于养殖行业的快速发展,市面上也出现了新型瘦肉精种类,这对检测技术也提出了较大的挑战。刘迪等<sup>[29]</sup>采用 UPLC-MS 同时测定猪肉中传统型和新型瘦肉精,结果显示,多种瘦肉精在 0.2~20.0  $\mu\text{g}/\text{L}$  范围内呈现良好的线性关系,相关系数>0.996 2,克伦特罗的 LODs 为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQs 为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;非诺特罗、RAC、CLP 的 LODs 为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQs 为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;其他类化合物的 LODs 为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQs 为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,目标化合物的回收率在 89.1%~121.5%之间, RSDs 为 2.6%~12.9%。该方法灵敏度高、检测准确,这在之前是从未报道过的,为后续进一步研究提供了技术参考,但是还有研究基体单一等其他问题,需要进一步改进。

Wang等<sup>[30]</sup>还做了一种酶辅助吹氮盐诱导固化悬浮有机液滴微萃取法,用毛细管电泳测定猪饲料中的克伦特罗和RAC,CLB和RCT的LODs分别为1.5和1.1 μg/kg,LOQs分别为5.0和3.7 μg/kg,日内RSDs为3.7%~6.8%,日间RSDs为6.4%~9.4%,CLB和RCT的平均回收率在75.2%~89.1%之间,实验中还对CZE的分离条件进行了优化,这些数据表明这个方法有利于饲料样品中瘦肉精的微量测量。

## 2.2 免疫分析法

免疫分析法包括了免疫层析法(ICA)和酶联免疫吸附法(ELISA)、胶体金试纸条快速检测法(GLFIS)等。在这类方法中ELISA技术最为成熟,适用于对数量较多的样品进行检测筛选,但其存在一些缺点,即重现性和特异性差,当样品中含有磺胺类药物时呈现假阳性<sup>[31]</sup>。传统的ELISA法不太适合食品化学危害的现场快速检测,所以需要开发一种经济、简单、易于使用的检测技术,用于食品中瘦肉精的检测。Ma等<sup>[32]</sup>以纸基微流控ELISA为基础,建立了一种快速检测食品中瘦肉精的方法,通过检测牛奶中的CLB得到的LODs为0.2 μg/kg,总分析时间约为1 h,低于常规ELISA所需的时间。基于光纤的微流控分析装置有纸基基质的分析设备,可以减少试剂的体积,缩短分析时间,有效降低了ELISA技术的成本。

胶体金标记免疫分析法是近年来发展起来的一种检测技术,它的特点是检测快速、成本低,适用于现场检测等。姜金庆等<sup>[33]</sup>研制了一种同时检测CLB和RAC的多残留胶体金层析试纸条,两种瘦肉精的目测LODs分别为1和2 μg/L,检测时间为5~8 min,大幅缩短了检测时间,并且阳性基质样品与单残留胶体金层析试纸条、ELISA、GC-MS检测后的结果一致,都没有出现假阳性或者假阴性情况;与后3种方法相比,它可以同时检测两种标记物,检测效率更高,缩短了检测时间、不需要昂贵机器等。但是,胶体金试纸条快速检测法不能用于痕量目标物的定量检测,为克服上述问题,王松柏等<sup>[34]</sup>将超顺纳米磁珠和荧光量子点作为荧光探针,构建了RAC的荧光免疫分析方法和磁免疫试纸条法,用于尿液基质中的检测并且进行了比较,结果表明,前者LODs为1 μg/L,检测时间为4 h,因此更适用于痕量和定量检测;后者LODs为10 μg/L,检测时间为15 min,更适于现场快速检测。顾娟红等<sup>[35]</sup>建立了

以金磁微粒为反应载体的免疫层析检测系统,用于低浓度CLB和RAC的检测,得出标准曲线范围分别是0.5~50和1.0~100 μg/L,LODs分别可达0.25和0.5 μg/L,回收率在82.71%~104.12%,样品中假阴性和假阳性概率均为0,灵敏性高、稳定性好、特异性强,适用于瘦肉精残留物的快速检测。

ICA法成本低、操作简单、检测时间短,便于快速筛查,但是传统的ICA多用于单一分析物的检测,近年来针对多个分析物检测进行了改进。时间分辨化学发光(CL)检测通常采用简单廉价的仪器进行,不需要外部的光源和分光系统,从而方便使用便携式检测器进行医疗定点检测。Wang等<sup>[36]</sup>首次建立了一种基于时间分辨化学发光策略的多路ICA用于定量检测瘦肉精,不同于通常需要两条或者多条测试线的传统多路ICA,这种方法是通过在硝化纤维素膜上使用一条测试线来检测两种β-兴奋剂,即RAC和CLB,在最佳条件下得出两种检测物的LODs分别为0.17和0.067 μg/L,整个过程不需要复杂的样品预处理,在20 min内即可完成检测,这为设计一种低成本、高效率、多路径的快速筛选和现场检测开辟了一条新的途径。Peng等<sup>[37]</sup>建立了一种基于高发光绿色金纳米簇的多路横向流动免疫检测传感器(AuNCs-MLFIA sensor),用于同时检测猪尿中的CLB和RAC,这个方法不需要样品前处理,在18 min内可检测出样品,LODs为0.25 μg/L,新开发的传感器克服了传统横向流动免疫测定法(LFIA)的局限性,提出了荧光偏振免疫法(FPIA),它是一种均质检测法,无需分离或洗涤步骤,10 min内可完成检测。Dong等<sup>[38]</sup>合成了10种荧光素标记的RCT衍生物,对其结构进行了系统表征,利用已有的RAC抗体建立了一种快速FPIA,该方法对猪肉中RAC的LODs为0.56 μg/kg,加标回收率为74.8%~86.6%,整个预处理的分析时间小于1 h。

## 2.3 其他新型技术

表面增强拉曼散射(SERS)技术近年来受到越来越多的关注,与传统的拉曼光谱相比,当目标分析物的浓度极低时,SERS可以增强光谱信号,基于这类方法的研究越来越成熟。Cheng等<sup>[39]</sup>提出了一种基于SERS的动物尿样CLB快速、选择性、定量检测方法,该方法以新型复合氧化石墨烯/金纳米颗粒(GO/AuNPs)为探针、三聚氰胺为内标,在尿样基质中CLB的LODs和LOQs分别低至0.5和1.0 μg/L,在4℃下回收率为78.6%~89.4%,变异系数

小于 9.8%。该方法可以 100% 准确识别所有的阳性和阴性尿样,适用于现场快速筛查。纳米复合材料修饰的电化学传感器在经济、快速、灵敏地检测 CLB 和 RAC 方面是一个很好的选择。Zhang 等<sup>[40]</sup> 基于异聚酸阴离子和过渡金属二氧化锆纳米复合材料,采用双信号放大法制备了一种新型电化学传感器,用于检测 CLB 和 RAC,将此传感器应用于猪肉样品中的 CLB 和 RAC 检测,回收率在 94.4% ~ 102.3%。Ge 等<sup>[41]</sup> 制备了一系列磷酸二烯(BP)纳米复合材料,具有高稳定性、防污能力、强电化学活性等特点,采用连续循环伏安法进一步消除电极表面的污垢后,选择了电化学辅助防污策略,该电极用于 CLB 和 RAC 在 0.8 和 1.0 V 的典型峰值电压下的电化学传感,在最佳条件下,牛肉、饲料和牛血清样品中 LODs 分别为 0.14 和 0.12  $\mu\text{mol/L}$ , CLB 的加标回收率为 98.3% ~ 101.0%, RAC 的加标回收率为 97.5% ~ 102.0%。李周敏等<sup>[42]</sup> 还利用重氮化法和二酸酐法合成了 CLB 和 RAC 的抗原,建立了食品中多残留同时检测的微阵列蛋白芯片法用于检测猪肉样品中的 CLB 和 RAC,得出两种瘦肉精类药物的线性范围分别是 0.07 ~ 1.2 和 0.05 ~ 0.8  $\mu\text{g/kg}$ ,加标回收率为 74% ~ 132%, RSDs 均小于 10%。该方法具有检测通量大、操作简单、准确性好和精密度高等特点,可用于实际样品中瘦肉精类药物的检测。

### 3 展望

关于肉类及其他食品样品中瘦肉精类药物残留量检测方法的研究越来越多,但是在前处理技术上仍需要继续改进,如 MIT 技术需要解决模板泄露的问题、MSPD 技术的吸附剂优化问题等。在后续检测技术上,除常规国家标准检测方法外,近几年研究者相继开发了多种新型检测方法,如各种具有特异性功能的纳米材料对瘦肉精进行吸附、提取,将纳米材料和传感器相结合以提高瘦肉精的检测回收率,部分荧光和酶传感器能够进行现场检测。此外, SERS 技术也适合于现场瘦肉精快速筛查。与传统检测技术相比,新开发的检测方法更加方便,并逐渐在现场检测方面发挥较大功效,减少了前处理的工作量和人工费用,故该类技术的进一步优化和改进是今后瘦肉精检测的工作重点,符合绿色化学的发展要求。

### 参考文献

[1] 王赏初. 瘦肉精的危害、检测方法及监管[J]. 湖南饲料, 2011,

(6): 39-41, 48.

- [2] 杨春学, 苏荣, 彭加武. “瘦肉精”残留的危害和控制措施[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2011, 27(6): 194.
- [3] 陆平. “瘦肉精”的危害及检测方法[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 33(3): 54-55.
- [4] 王丽君, 付倩倩, 刘琳秀. 动物产品中  $\beta$ -受体激动剂残留检测前处理技术[J]. 畜禽业, 2020, 31(11): 31-32.
- [5] 潘胜东, 叶美君, 王立, 等. 混合型阳离子交换固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定肉样中特布他林、沙丁胺醇、莱克多巴胺和克伦特罗残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(23): 2841-2844, 2862.
- [6] 曾绍东, 马会芳, 林丽云, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定猪尿中莱克多巴胺、沙丁胺醇、克伦特罗残留量[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020, (8): 33-38.
- [7] 王培龙, 范理, 苏晓鸥, 等. 分子印迹固相萃取-气相色谱-质谱法测定猪尿中 4 种  $\beta$ -受体激动剂[J]. 分析化学, 2012, 40(3): 470-473.
- [8] 马俊美, 孙磊, 刘苗, 等. 在线固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和羊肉中 10 种  $\beta$ -受体激动剂[J]. 肉类研究, 2018, 32(5): 19-25.
- [9] 李冰, 张蕊, 李蕾. 浅谈 HPLC-MS/MS 测定瘦肉精的碳纳米材料净化富集前处理研究[J]. 环境科学与管理, 2020, 45(12): 95-98.
- [10] 康明星, 宋爱英, 苏文渊. 固相微萃取技术在滥用药物分析中的应用进展[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(8): 1313-1320.
- [11] 梁亚莉, 殷斌志, 胡小钟, 等. 衍生化固相微萃取-色谱质谱法快速检测猪尿中的  $\beta$ -受体兴奋剂[J]. 分析化学, 2003, 31(3): 326-328.
- [12] Aresta A, Calvano C D, Palmisano F, et al. Determination of clenbuterol in human urine and serum by solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008, 47(3): 641-645.
- [13] Du Wei, Zhang Siruo, Fu Qiang, et al. Combined solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for simultaneous analysis of clenbuterol, salbutamol and ractopamine in pig samples[J]. Biomedical Chromatography, 2013, 27(12): 1775-1781.
- [14] Gao Ting, Ye Nengsheng, Li Jian. Determination of ractopamine and clenbuterol in beef by graphene oxide hollow fiber solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography[J]. Analytical Letters, 2016, 49(8): 1163-1175.
- [15] Ye Diru, Wu Susu, Xu Jianqiao, et al. Rapid determination of clenbuterol in pork by direct immersion solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatographic Science, 2016, 54(2): 112-118.
- [16] 孙清荣, 李楠, 郭礼强, 等. HPLC-MS/MS 法测定猪肉中克伦特罗和莱克多巴胺[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(20): 154-

- 159.
- [17] 鲁立良,王远,郝家勇,等.基质固相分散/高效液相色谱-串联质谱法分析肉肠中4种 $\beta_2$ -受体激动剂残留[J].分析测试学报,2012,31(5):535-540.
- [18] 张旖,赵善贞,曲栗,等.HPLC-q/LTQ-MS法测定肉及肉制品中10种 $\beta$ -受体激动剂[J].食品科学,2014,35(20):202-207.
- [19] Tao Yanfei, Zhu Fangwei, Chen Dongmei, *et al.* Evaluation of matrix solid phase dispersion extraction for 11  $\beta$ -agonists in swine feed by liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(18): 2574-2582.
- [20] Zhu Yuling, Yang Siwen, Chen Gang, *et al.* Single "click" synthesis of a mixed-mode silica sorbent and application in matrix solid-phase dispersion extraction of  $\beta$ -agonists from porcine liver[J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1354(8): 101-108.
- [21] Du Wei, Fu Qiang, Zhao Gang, *et al.* Dummy-template molecularly imprinted solid phase extraction for selective analysis of ractopamine in pork[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1-4): 24-30.
- [22] 杨挺,吴银良,李存,等.莱克多巴胺表面分子印迹材料的制备、表征及吸附性能[J].中国农业科学,2013,46(6):1256-1262.
- [23] Wang Peilong, Liu Ximeng, Su Xiaou, *et al.* Sensitive detection of  $\beta$ -agonists in pork tissue with novel molecularly imprinted polymer extraction followed liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry detection[J]. Food Chemistry, 2015, 184: 72-79.
- [24] Xiao Xiaohua, Yan Kuanglin, Xu Xianfang, *et al.* Rapid analysis of ractopamine in pig tissues by dummy-template imprinted solid-phase extraction coupling with surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Talanta, 2015, 138: 40-45.
- [25] 王权帅,孙卫明,刘建荣.猪肉中特布他林等4种瘦肉精残留量的固相萃取-气相色谱质谱联用测定法[J].职业与健康,2015,31(2):181-183.
- [26] 姚德祥,杜作东,黎小鹏,等.气相色谱-质谱法测定动物肝脏中 $\beta$ -受体激动剂残留[J].现代农业科技,2016,(23):244-245.
- [27] Yan Kunping, Zhang Huiqun, Hui Wenli, *et al.* Rapid screening of toxic salbutamol, ractopamine, and clenbuterol in pork sample by high-performance liquid chromatography-UV method[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2016, 24(2): 277-283.
- [28] 岳韩笑,雷雯,杜晓宁,等.同位素稀释-气相色谱-串联质谱法测定猪肉中残留的4种 $\beta$ -受体激动剂[J].质谱学报,2018,39(1):61-68.
- [29] 刘迪,韩莉,黄坤,等.超液相色谱-串联质谱同时测定猪肉中传统型和新型瘦肉精[J].食品与机械,2019,35(7):87-93.
- [30] Wang Huili, Yan Hao, Shi Mengru, *et al.* An enzyme-assisted and nitrogen-blowing salt-induced solidified floating organic droplet microextraction for determination of clenbuterol and ractopamine in swine feed via capillary electrophoresis[J]. Animal Feed Science and Technology, 2015, 209: 257-267.
- [31] 徐伟,程凤科,孟银,等.酶联免疫吸附法在兽药残留检测中的应用[J].中国家禽,2013,35(12):49-50,52.
- [32] Ma Luyao, Azadeh Nilghaz, Jane Ru Choi, *et al.* Rapid detection of clenbuterol in milk using microfluidic paper-based ELISA[J]. Food Chemistry, 2018, 246: 437-441.
- [33] 姜金庆,杨雪峰,王自良,等.克伦特罗和莱克多巴胺多残留胶体金免疫层析试纸条的研制[J].畜牧兽医学报,2013,44(1): 87-94.
- [34] 王松柏,张彦,卫艳丽,等.荧光免疫及磁免疫层析法检测莱克多巴胺的研究[J].光谱学与光谱分析,2015,35(11):3100-3104.
- [35] 顾娟红,陈军,叶剑娜,等.纳米金磁免疫层析在瘦肉精残留检测中的应用研究[J].能源环境保护,2018,32(6):58-62.
- [36] Wang Wenwen, Su Xiaoxiao, Ouyang Hui, *et al.* A novel immunochromatographic assay based on a time-resolved chemiluminescence strategy for the multiplexed detection of ractopamine and clenbuterol[J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 917: 79-84.
- [37] Peng Tao, Wang Jianyi, Zhao Sijun, *et al.* Highly luminescent green-emitting Au nanocluster-based multiplex lateral flow immunoassay for ultrasensitive detection of clenbuterol and ractopamine[J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1040: 143-149.
- [38] Dong Baolei, Zhao Sijun, Li Hongfang, *et al.* Design, synthesis and characterization of tracers and development of a fluorescence polarization immunoassay for the rapid detection of ractopamine in pork[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 9-17.
- [39] Cheng Jie, Wang Shi, Zhang Su, *et al.* Rapid and sensitive determination of clenbuterol residues in animal urine by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 279: 7-14.
- [40] Zhang Lihui, Wang Qiwen, Qi Yu, *et al.* An ultrasensitive sensor based on polyoxometalate and zirconium dioxide nanocomposites hybrids material for simultaneous detection of toxic clenbuterol and ractopamine[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 288: 347-355.
- [41] Ge Yu, Qu Mingren, Xu Lanjiao, *et al.* Phosphorene nanocomposite with high environmental stability and antifouling capability for simultaneous sensing of clenbuterol and ractopamine[J]. Microchimica Acta, 2019, 186: 836.
- [42] 李周敏,王颖,冷寒雪,等.蛋白芯片法同时检测食品中克伦特罗与莱克多巴胺的残留量[J].分析测试学报,2019,38(8): 913-919. ■