

# 竞争化学发光酶免疫测定技术检测盐酸克伦特罗

王毅谦<sup>1\*</sup>, 陆慧媛<sup>1</sup>, 袁芳<sup>1</sup>, 徐恒<sup>2</sup>, 方云涛<sup>1</sup>, 沈伟健<sup>1</sup>, 于洋<sup>3</sup>

(1. 江苏出入境检验检疫局, 南京 210000; 2. 南京工业大学, 南京 210000;  
3. 扬州市伊绿鲜生态农业科技有限公司, 扬州 225000)

**摘要:** **目的** 建立一种检测盐酸克伦特罗(clenbuterol, CLB)的竞争化学发光酶免疫测定法(chemiluminescent enzyme immunoassay, CLEIA)。**方法** 基于CLB的竞争酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 通过优化反应温度、反应时间和缓冲体系pH建立了CLB的CLEIA测定法。用CLB小鼠中毒模型评价CLEIA检测法对实际样本的检测效果, 并将CLEIA与LC-MS法的相关性进行了比较。**结果** CLEIA法测定CLB的检测范围为0.0433~42.5363 μg/L, 检测限为0.0178 μg/L, 变异系数小于10%, 回收率为95%~110%, 对莱克多巴胺和沙丁胺醇仅有极低的交叉反应性。所建立的CLEIA法与LC-MS法在检测实际样本时具有较高的相关性。**结论** 本研究建立的CLEIA法操作简便, 检测限、灵敏度、准确度、特异性均符合检测要求, 可用于实际样品的检测。

**关键词:** 竞争化学发光酶免疫测定法; 竞争酶联免疫吸附测定法; 盐酸克伦特罗

## Determination of clenbuterol by competitive chemiluminescent enzyme immunoassay

WANG Yi-Qian<sup>1\*</sup>, LU Hui-Yuan<sup>1</sup>, YUAN Fang<sup>1</sup>, XU Heng<sup>2</sup>, FANG Yun-Tao<sup>1</sup>, SHEN Wei-Jian<sup>1</sup>, YU Yang<sup>3</sup>

(1. Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing 210000, China; 2. Nanjing University of Technology, Nanjing 210000, China; 3. Efresh Eco-Agriculture Co., Ltd., Yangzhou 225000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of clenbuterol (CLB) by competitive chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA). **Methods** The CLEIA method was established for the detection of CLB after the optimization of reaction temperature, reaction time and buffer system pH based on enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The effect of CLEIA test on the actual samples was evaluated by CLB poisoning model of mice. And the correlation between CLEIA and LC-MS was compared. **Results** The detection range of CLB by CLEIA was 0.0433~42.5363 μg/L with the detection limit was 0.0178 μg/L, variation coefficient less than 10%. The recoveries of method were ranged from 95% to 110%. There was little cross-reaction to ractopamine and albuterol in CLB detection by CLEIA. Moreover, the established CLEIA method had a high correlation with LC-MS method in the detection of actual samples. **Conclusion** This CLIEA method is simple, sensitive, accurate and it has a lower detection limit and good specificity, which is suitable for the rapid determination of CLB in samples.

**KEY WORDS:** competitive chemiluminescent enzyme immunoassay; competitive enzyme linked immunosorbent assay; clenbuterol

基金项目: 江苏出入境检验检疫局科技项目(2015KJ25)

**Fund:** Supported by Science and Technology Project of Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau(2015KJ25)

\*通讯作者: 王毅谦, 高级工程师, 主要研究方向为粮油食品检测。E-mail: w1000319@163.com

\*Corresponding author: WANG Yi-Qian, Senior Engineer, Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing 210000, China. E-mail: w1000319@163.com

## 1 引言

盐酸克伦特罗(clenbuterol, CLB)又称“瘦肉精”, 为白色或近似白色的结晶粉末, 无臭、味苦, 溶于水、乙醇, 微溶于丙酮, 不溶于乙醚, 其化学名称为  $\alpha$ -[(叔丁氨基)甲基]-4-氨基-3,5-二氯苯甲醇, 是一种人工合成的肾上腺素受体选择性激动剂, 用于治疗支气管哮喘、慢性支气管炎和肺气肿等疾病<sup>[1]</sup>。大量的 CLB 可使得营养由脂肪转移至肌肉, 使脂肪分解能力增加, 蛋白质合成能力增强, 显著增加胴体的瘦肉率, 曾被用作牛、羊、禽、猪等畜禽的促生长剂<sup>[2,3]</sup>, 使得瘦肉率提高, 带来更大的经济价值<sup>[4,5]</sup>。但是 CLB 会对人体造成毒副作用, 其中毒症状为: 心动过速、肌肉震颤、心悸、恶心呕吐、头晕、神经过敏和外周血管扩张等, 故被列为禁用药品。养殖户的非法使用或不遵守休药期是造成 CLB 超标的主要原因。

目前最为常用的 CLB 检测方法包括色谱法和免疫分析法<sup>[6]</sup>。气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS)等色谱方法操作步骤繁琐, 需要贵重仪器, 一般在对阳性结果做出准确判断时使用<sup>[7,8]</sup>。而免疫检测法广泛应用于环境、食品及临床医学领域, 其灵敏度和成本较低、操作简单, 更适合大规模的常规检测<sup>[9]</sup>。化学发光酶免疫测定法(chemiluminescent enzyme immunoassay assay, CLEIA)将化学发光和酶联免疫技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)相结合, 具有灵敏度高、线性范围宽、分析方法更简便快速和稳定性强特点<sup>[10]</sup>。本研究建立了 CLB 的竞争 ELISA 法, 并在此基础上通过优化反应温度、反应时间和缓冲体系 pH 等, 建立了 CLB 的竞争 CLEIA 法。

## 2 材料与方法

### 2.1 试剂

CLB 标准品(纯度 > 98%, 美国 Sigma 公司); CLB-人血清白蛋白(HSA)交联复合物(纯度 > 90%, 苏州快捷康生物科技有限公司); HRP-抗 CLB 多克隆抗体(纯度 > 90%, 苏州快捷康生物科技有限公司); 莱克多巴胺(美国 Sigma 公司); 沙丁胺醇(美国 Sigma 公司); 包被液: 0.05 mol/L 碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液, pH=9.6; 封闭液: 1%酪蛋白(来源于牛奶)溶液; 洗液: 0.05%吐温-20 的 PBS 溶液; 稀释液: 磷酸盐缓冲液(PBS); ELISA 显色液: TMB(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ELISA 终止液: 2 mol/L 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液; CLEIA 发光底物液: 鲁米诺(美国 Sigma 公司)

### 2.2 仪器

96 孔可拆卸酶标板(美国 Corning 公司); MULTISKAN

FC 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 96 孔化学发光可拆卸白板(美国 Corning 公司); PHX-2012 化学发光仪(北京普朗新科技有限公司); Ultra 液相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo 公司)。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 竞争酶联免疫吸附测定法

用包被液稀释 CLB-人血清白蛋白(HSA)交联复合物至 1  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ L/孔包被于 96 孔酶标板, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜; 弃掉液体, PBST 溶液洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加封闭液, 200  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 弃掉液体, PBST 溶液洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加 100  $\mu$ L 抗原/样本和 100  $\mu$ L HRP-抗 CLB 多克隆抗体(1  $\mu$ g/mL), 37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 弃掉液体, PBST 溶液洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加 TMB 显色液, 100  $\mu$ L/孔, 室温孵育 10 min, 加终止液 50  $\mu$ L/孔, 立刻置于酶标仪上读取光密度值(optical density, OD)。

盐酸克伦特罗对抗原抗体结合反应的抑制率:  $IC\%=(1-OD_{\text{样品}}/OD_{\text{max}})\times 100\%$ 。

#### 2.3.2 化学发光酶免疫测定法

用包被液稀释 CLB-人血清白蛋白(HSA)交联复合物为 1  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ L/孔包被于 96 孔酶标板, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜; 弃掉液体, PBST 洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加封闭液, 200  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 弃掉液体, PBST 洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加 100  $\mu$ L 抗原/样本和 100  $\mu$ L HRP-抗 CLB 多克隆抗体(1  $\mu$ g/mL), 37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 弃掉液体, PBST 洗 5 次, 30 s/次, 拍干; 加化学发光底物液鲁米诺 100  $\mu$ L/孔, 立刻置于化学发光仪上读取相对发光值(relative light unit, RLU)。

盐酸克伦特罗对抗原抗体结合反应的抑制率值:  $IC\%=(1-RLU_{\text{样品}}/RLU_{\text{max}})\times 100\%$ 。

### 2.4 实验动物

18 只雌性小鼠, 体重 20 $\pm$ 2 g, 购于扬州大学转化医学中心, 饲养于南京医科大学实验动物中心无病原体环境, 通风换气良好, 温度 18~22  $^{\circ}$ C, 湿度 45%~65%, 12 h 光照, 12 h 黑暗循环, 自由觅食进水, 自由活动。

### 2.5 盐酸克伦特罗中毒小鼠模型的建立

将 18 只雌性小鼠随机分为 3 组, 每组 6 只, 分别为阴性对照组、高剂量模型组和低剂量模型组。阴性对照组的小鼠, 每只小鼠腹腔注射生理盐水 200  $\mu$ L; 高剂量模型组的小鼠, 每天 1 mg/kg CLB 腹腔注射; 低剂量模型组的小鼠, 每天 0.5 mg/kg CLB 腹腔注射, 给药 3 周, 停止给药后无需禁食, 第 2 天腹腔注射 20%乌拉坦 0.5 mL 进行麻醉, 仰卧于解剖盘上, 取其肝、肾、肌肉。

### 2.6 动物组织处理方法

取正常组织样(肝、肾、肌肉)(0.5 g), 加 1 mL 0.1 mol/L 高氯酸溶液匀浆振荡提取 5 min, 再加入 1 mL PBS 混匀,

4 ℃、5000 r/min 离心 30 min, 取全部上清用 2 mol/L NaOH 调节 pH 为 7.4。

## 2.7 样品测定

依据国标方法 GB/T 22286-2008, 采用液质联用仪, 测定样本中盐酸克伦特罗的含量。色谱柱为 Waters ATLANTICSC<sub>18</sub> 柱(150 mm×2.1 mm, 5 μm); 流动相 A: 0.1%甲酸水溶液, 流动相 B: 0.1%甲酸-乙腈溶液; 流速: 0.2 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 20 μL。

## 2.8 数据处理

根据文献报道<sup>[11]</sup>, 灵敏度是指抑制率为 50%时(IC<sub>50</sub>)的浓度, 检测限是指 IC<sub>10</sub> 所对应的浓度值, 检测范围是指 IC<sub>15</sub>~IC<sub>90</sub> 所对应的浓度范围。交叉反应率(%)=IC<sub>50</sub>(盐酸克伦特罗)/IC<sub>50</sub>(其他药物)×100。

## 3 结果与讨论

### 3.1 ELISA 测定法的建立

本研究建立了 CLB 的竞争酶联免疫吸附检测法(ELISA), 其标准曲线如图 1 所示, 相关系数  $r=0.9945$ , 检测范围为 0.2145~40.3928 μg/L, 理论最低检测限为 0.2145 μg/L, 灵敏度 IC<sub>50</sub>=2.1377 μg/L。酶联免疫分析法检测方便、成本低, 但灵敏度不高, 反应时间较长, 无法满足现场检测的需求, 特别是本 CLB 的 ELISA 法的检测限为 0.2145 μg/L。此检出限过高, 不能满足 CLB 检测中的灵敏度要求。由于抗体一般对化学结构相似或有相似抗原决定簇的抗原的识别能力可能有偏差, 莱克多巴胺和沙丁胺醇为 CLB 的结构类似物<sup>[12]</sup>, 因此选择 2 者作为测定对象, 确定 ELISA 法测定 CLB 时, 与莱克多巴胺和沙丁胺醇的交叉反应率, 结果见表 1, 从表 1 可知, ELISA 法对莱克多巴胺和沙丁胺醇的交叉反应率极低。

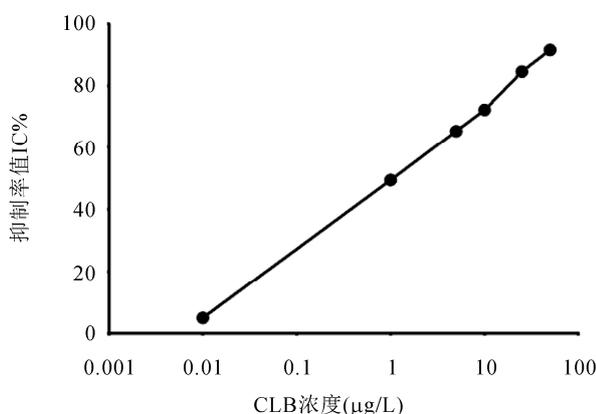


图 1 ELISA 法测定 CLB 的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of CLB detection by ELISA

表 1 ELISA 法测定 CLB 时对莱克多巴胺和沙丁胺醇的交叉反应性  
Table 1 The cross-reaction to ractopamine and albuterol of CLB detection by ELISA

添加物质	IC <sub>50</sub> (μg/L)	交叉反应率(%)
盐酸克伦特罗	2.1377	/
莱克多巴胺	>2000	<0.1069
沙丁胺醇	>100	<2.1377

化学发光免疫测定法将化学发光和免疫技术相结合, 具有灵敏度高、线性范围宽、分析方法更简便快速及稳定性强的特点。基于 CLB-人血清白蛋白(HSA)交联复合物、CLB-BSA 抗原、CLB 抗体-HRP 的竞争 ELISA 测定 CLB 体系, 本研究尝试建立竞争 CLEIA 测定法, 并通过优化反应时间和温度、体系 pH 值, 建立符合 CLB 测定要求的 CLEIA 检测方法。

### 3.2 化学发光酶免疫测定法的反应温度和反应时间优化

按照上述实验方法在室温(20 ℃)下分别反应 45、60、90 min, 在 37 ℃下反应 20、30、60 min, 比较不同反应温度和反应时间下的标准曲线。如图 2 所示, 图中蓝色线为 0 浓度背景值的最大发光值  $RLU_{max}$ , 红色线为  $RLU_{max}$  和灵敏度 IC<sub>50</sub> 的比值。从图 2 可以看出, 在反应温度为 37 ℃, 反应时间为 30 min 的条件下,  $RLU_{max}$  和  $RLU_{max}/IC_{50}$  最大, 检测范围的 RLU 值广、IC<sub>50</sub> 值最小, 灵敏度最高, 故选择反应体系的反应温度为 37 ℃, 反应时间为 30 min。

### 3.3 化学发光酶免疫测定法中 pH 值的优化

反应体系的 pH 值能直接影响抗原、抗体之间的结合。使用不同 pH 值(5.4、6.4、7.4、8.4、9.4)的 PBST 配制一系列浓度的 CLB 标准溶液和标记抗体溶液。比较不同 pH 值下反应体系的标准曲线, 如图 3 所示, pH=7.4 的条件下,  $RLU_{max}$  和  $RLU_{max}/IC_{50}$  均最大, 检测范围的 RLU 值广、IC<sub>50</sub> 值最小, 灵敏度最高, 故选择反应体系的 pH 值为 7.4 左右。

### 3.4 化学发光酶免疫测定法的交叉反应

按照本研究中的方法, 对一系列浓度的 CLB、莱克多巴胺和沙丁胺醇标准品溶液进行测定, 比较不同抗原的灵敏度 IC<sub>50</sub>(表 2), 结果表明, 该方法对莱克多巴胺和沙丁胺醇仅有极低的交叉反应性。

### 3.5 化学发光酶免疫测定法的建立

优化上述参数后, 本研究建立了盐酸克伦特罗的 CLEIA 测定方法, 其标准曲线如图 4 所示, 相关系数  $r=0.9932$ , 检测范围为 0.0433~42.5363 μg/L, 理论检测限为 0.0178 μg/L, 灵敏度为 1.3568 μg/L。与竞争 ELISA 的检测范围(0.2145~40.3928 μg/L)和理论最低检测限(0.2145 μg/L)相比, CLB 的 CLEIA 检测法具有更高的灵敏度和更宽的检测范围。

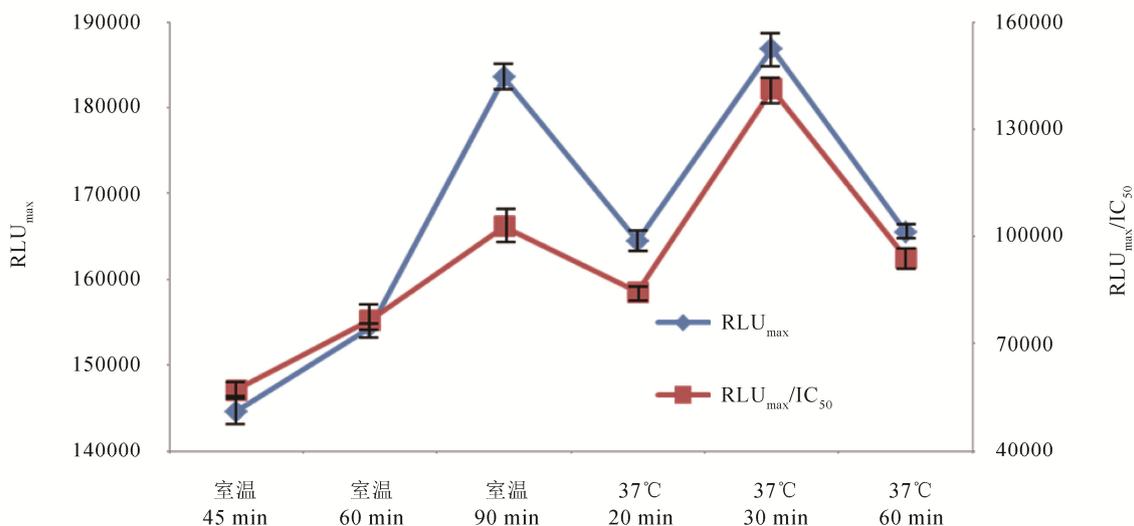


图 2 CLEIA 法测定 CLB 中体系反应温度和反应时间的影响(n=3)  
Fig. 2 The effect of incubation temperature and time on CLB detection by CLEIA(n=3)

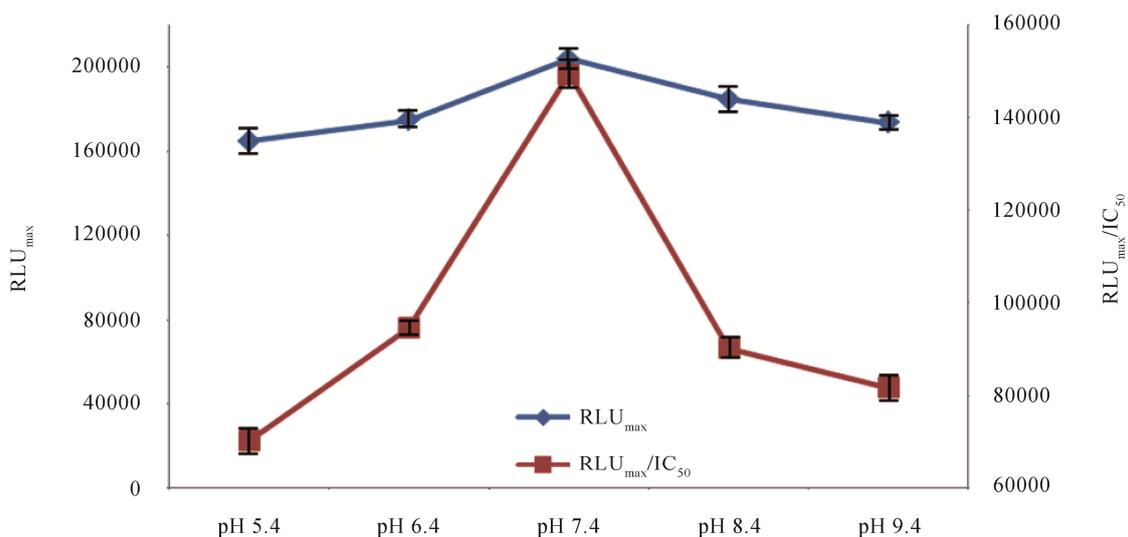


图 3 CLEIA 法测定 CLB 中反应体系 pH 值的影响(n=3)  
Fig. 3 The effect of buffer pH on CLB detection by CLEIA(n=3)

表 2 CLEIA 法测定 CLB 对莱克多巴胺和沙丁胺醇的交叉反应性  
Table 2 The cross-reaction to ractopamine and albuterol of CLB detection by CLEIA

添加物质	IC <sub>50</sub> (μg/L)	交叉反应率
盐酸克伦特罗	1.3568	/
莱克多巴胺	>2000	<0.0678%
沙丁胺醇	>100	<1.3568%

### 3.6 ELISA 法和 CLEIA 法测定实际样品的比较

在猪尿样中加入不同浓度的 CLB 标准品(0.1、0.2、1.0、5.0、10.0 μg/L), 分别用 ELISA 检测法和 CLEIA 检测法进行检测, 分别绘制标准曲线并计算回收率, 结果如表 3 所示。ELISA 测定法和 CLEIA 测定法检测猪尿样本时, 检测范围内的 CLB 浓度的变异系数(CV)小于 10%, 回收率为 95%~110%。ELISA 测定法和 CLEIA 测定法均能检测样本中 CLB 的含量, 对于高浓度样本, ELISA 测定法和 CLEIA

测定法无差别,但是对于低浓度样本,CLEIA测定法优于ELISA测定法。故CLEIA测定法检测限低,能满足检测的需求,而且在低浓度区域优于ELISA检测法。

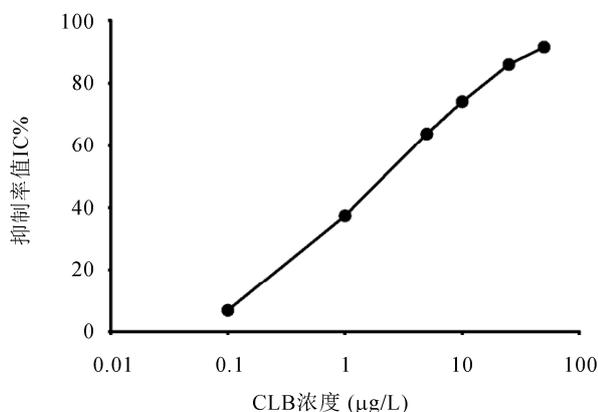


图4 CLB的CLEIA测定法标准曲线

Fig. 4 Standard curve of CLB detection by CLEIA

### 3.7 CLB中毒小鼠组织样本的CLEIA测定

与阴性组小鼠相比,阳性组小鼠的皮肤变薄,毛发松散易拔取,腹腔内脏器官无脂肪组织。用CLEIA测定法对阴性组、高剂量组、低剂量组CLB中毒小鼠的肝、肾及肌肉样本进行检测,结果如表4所示。在CLB中毒小鼠的肝、肾和肌肉中均能检测出CLB,CLB残留量按浓度大小依次

为:肝>肾>肌肉。

### 3.8 CLEIA法与LC-MS测定的相关性比较

在LC-MS法中,以CLB标准品(0、0.08、0.4、2、8、50、500 ng/mL)建立标准曲线,如图5所示,其相关系数 $r^2=0.9952$ ,CLB的液质联用图谱如图6所示,其保留时间为5.03 min。分别采用化学发光酶免疫测定法与液质联用法测定相同添加浓度的样品,并对测定结果进行回归分析,如图7所示,其相关系数 $r^2=0.9795$ ,表明2种测定方法的相关性较好。

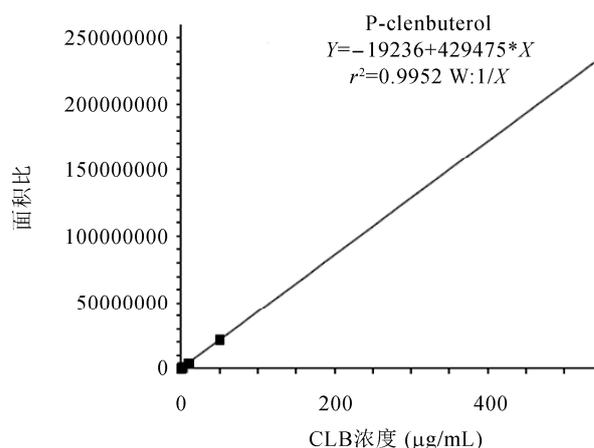


图5 LC-MS法测定CLB的标准曲线

Fig. 5 Standard curve of CLB detection by LC-MS

表3 ELISA法和CLEIA法检测猪尿样中CLB的浓度(n=3)

Table 3 The detection of CLB concentration by ELISA and CLEIA in urine sample from swine (n=3)

CLB添加量(µg/L)	测定均值(µg/L)		CV(%)		回收率(%)	
	ELISA	CLEIA	ELISA	CLEIA	ELISA	CLEIA
0.1	0.1533	0.102	13.58	5.96	153.33	102.00
0.2	0.2467	0.193	6.19	7.63	123.33	96.50
1	1.097	1.072	11.72	7.68	109.67	107.20
5	5.233	5.233	5.84	7.23	104.67	104.67
10	10.467	10.500	3.98	5.79	104.67	105.00

表4 CLEIA法检测CLB中毒小鼠各组织中的CLB浓度(n=6)

Table 4 The concentration of CLB detected by CLEIA in tissues from CLB-toxic mice model (n=6)

分组	浓度(µg/L)		
	肝	肾	肌肉
阴性组	0.0167±0.0021	0.0189±0.0034	0.0157±0.0019
低剂量组	5.1365±0.9783	2.0617±0.8627	0.79642±0.4321
高剂量组	11.4563±2.8562	7.6724±1.0427	2.8698±0.6428

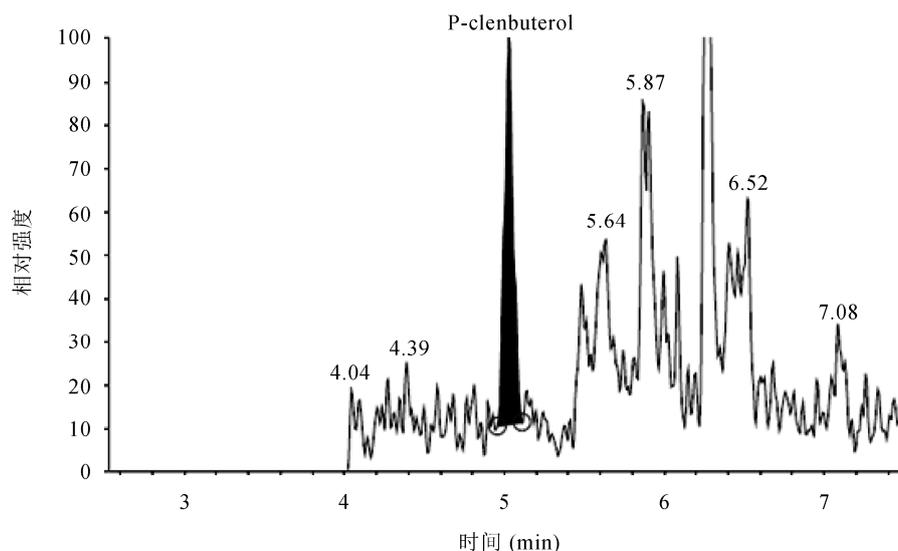


图 6 LC-MS 法测定 CLB 的谱图  
Fig.6 Spectrogram of CLB detection by LC-MS

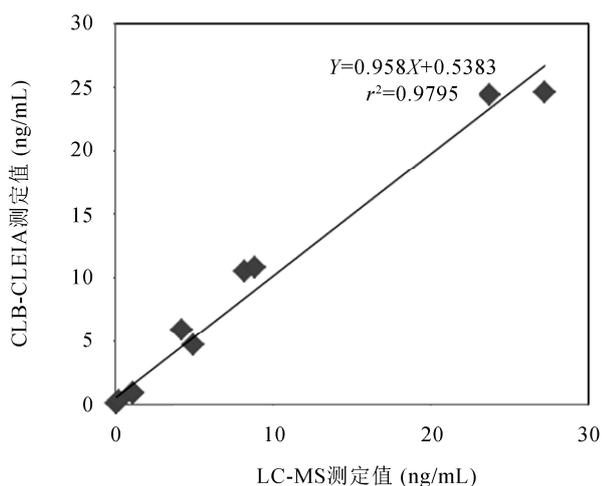


图 7 CLEIA 法与 LC-MS 法的相关性  
Fig. 7 Relevance of CLEIA and LC-MS

#### 4 结 论

本研究建立了 CLB 测定的竞争 ELISA 法, 并在此基础上通过优化反应温度、反应时间及缓冲体系 pH, 建立了 CLB 测定的竞争 CLEIA 法。该方法的检测范围为 0.0433~42.5363  $\mu\text{g/L}$ , 理论检测限为 0.0178  $\mu\text{g/L}$ , 变异系数小于 10%, 回收率为 95%~110%, 对莱克多巴胺和沙丁胺醇仅有极低的交叉反应性, 且具有较高的精密度和准确度。

CLEIA 检测法操作简便, 检测限低, 灵敏度、准确度、特异性良好, 符合检测要求。用 CLB 中毒小鼠模型验证

CLEIA 法检测 CLB 的能力, 结果表明, 小鼠肝、肾和肌肉中 CLB 的残留量按浓度大小依次为: 肝>肾>肌肉。采用 CLEIA 检测法与液质联用法分别测定相同添加浓度的样品, 对测定结果进行回归分析, 证实了建立的 CLEIA 法与 LC-MS 法检测实际样本时具有较高的相关性。因此, 本研究建立的 CLEIA 检测法适用于新鲜或冷冻的畜、禽肉内脏及其制品中克伦特罗残留的测定, 尤其适用于大量样本的快速检测。

#### 参考文献

- [1] 何洁仪, 马林, 李迎月, 等. 广州市 17 起盐酸克伦特罗食物中毒分析及预防措施[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(1): 54-55.  
He JY, Ma L, Li YY, *et al.* Analysis of 17 outbreaks of food poisoning by clenbuterol hydrochloride residue in Guangzhou [J]. Chin J Food Hyg, 2003, 15(1): 54-55.
- [2] Brambilla G, Cenci T, Franconi F, *et al.* Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy [J]. Toxicol Lett, 2000, 114(1-3): 47-53.
- [3] Heikens, D. Clenbuterol, a  $\beta_2$ -adrenergic agonist, reciprocally alters PGC-1 $\alpha$  and RIP140 and reduces fatty acid and pyruvate oxidation in rat skeletal muscle [J]. Am J Physiol Reg Integ Comp Phys, 2011, 302(3): R373-84.
- [4] Xu J, Li Y, Guo J, *et al.* Fluorescent detection of clenbuterol using fluorophore functionalized gold nanoparticles based on fluorescence resonance energy transfer [J]. Food Control, 2014, 46: 67-74.
- [5] Reeds PJ, Hay SM, Dorwood PM, *et al.* Stimulation of muscle growth by clenbuterol: lack of effect on muscle protein biosynthesis [J]. Brit J Nutrit, 1986, 56(1): 249-258.
- [6] 黄小洁, 朱永仁. 盐酸克伦特罗检测方法的比较和应用[J]. 现代农业科技, 2011, (15): 37-37.

- Huang XJ, Zhu YR. Comparison and application of clenbuterol detection methods [J]. Mod Agric Sci Technol, 2011, (15): 37–37.
- [7] Thi THT, Huong Do TM, Hoang MH, *et al.* Rapid and sensitive detection of clenbuterol using a fluorescence nanosensor based on diazo coupling mechanism [J]. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol, 2015, 6(2).
- [8] Zhang XZ, Gan YR, Zhao FN. Determination of clenbuterol in pig liver by high-performance liquid chromatography with a coulometric electrode array system [J]. Anal Chim Acta, 2003, 489(1): 95–101.
- [9] 肖治理, 余建华, 雷红涛, 等. 盐酸克伦特罗快速检测胶体金试纸的研制 [J]. 现代食品科技, 2013, (8): 2004–2010.  
Xiao ZL, Yu JH, Lei HT, *et al.* Development of clenbuterol hydrochloride rapid detection colloidal gold test paper [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, (8): 2004–2010.
- [10] He P, Wang Z, Zhang L, *et al.* Development of a label-free electrochemical immunosensor based on carbon nanotube for rapid determination of clenbuterol [J]. Food Chem, 2009, 112(3): 707–714.
- [11] 王硕, 李细芬, 生威, 等. 增强化学发光酶免疫法对猪肉中盐酸克伦特罗的检测[J]. 分析测试学报, 2010, 29(3): 215–219.
- Wang S, Li XF, Sheng W, *et al.* Detection of clenbuterol hydrochloride in pork by enhanced chemiluminescence enzyme immunoassay [J]. J Instrum Anal, 2010, 29(3): 215–219.
- [12] 顾亮, 丁磊. 液相色谱串联质谱法测定饲料中盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、苯乙醇胺 A [J]. 化学分析计量, 2012, 21(1): 37–39.  
Gu L, Ding L. Determination of clenbuterol, ractopamine, salbutamol, phenylethanolamine a in feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Anal Measurment, 2012, 21(1): 37–39.

(责任编辑: 刘丹)

## 作者简介



王毅谦, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为粮油食品检测。  
E-mail: w1000319@163.com