

瘦肉精对运动员生理功能的影响及其 检测方法的研究进展

李大伟*

(铜川职业技术学院, 铜川 727031)

摘要: 近年来, 关于“瘦肉精”的安全事件频频发生, 严重威胁着人们的身体健康, 造成了极其恶劣的影响; 一些运动员有意或无意的服用, 影响了竞技体育的公平原则, 引起了人们的高度警惕与重视。本文对瘦肉精的特性、药理作用及残留危害(特别是对运动员)进行了介绍, 并综述了各种检测方法, 包括用于确证的大型仪器分析方法与现场快速检测的免疫分析方法等, 分析其各自优缺点, 以期人们对“瘦肉精”有更全面的认识。

关键词: 瘦肉精; 药理作用; 生理影响; 检测方法; 兴奋剂

Advances in effects of clenbuterol on physiological functions of athletes and its detection methods

LI Da-Wei*

(Tongchuan Vocational and Technical College, Tongchuan 727031, China)

ABSTRACT: In recent years, the safety incidents of "clenbuterol" have occurred frequently, which seriously threaten people's health and cause extremely bad effects. Some athletes take it intentionally or unintentionally, which affects the fairness principle of competitive sports and has caused people's highly alert. In this paper, the characteristics, pharmacological effects and residual hazards of clenbuterol (especially for athletes) were introduced, and various detection methods were reviewed with comparison, including large-scale instrument analysis methods for confirmation and immunoassay method for on-site rapid detection, so as to have a more comprehensive understanding of "clenbuterol".

KEY WORDS: clenbuterol; pharmacological effects; physiological effects; detection methods; stimulants

1 引言

上世纪 80 年代, 美国一家公司意外发现, 将盐酸克伦特罗添加于动物饲料中, 能够有效提高饲料利用率, 促进动物肌肉特别是骨骼肌中蛋白质的合成, 同时抑制脂肪的合成与积累, 能够将瘦肉率提高 9%~16%, 骨骼肌脂肪降低 8%~15%, 故将其称为“瘦肉精”^[1-3]。随后, 它作为“营养重分配剂”及“促生长剂”被一些国家推广、应用于养殖业。

由于大量的不规范使用, “瘦肉精”残留造成的食品安全事件频发, 盐酸克伦特罗已经成为世界上普遍禁用的添

加剂^[4,5]。

随着人们对此类非法添加剂的日益警惕, 国内外许多机构、学者对“瘦肉精”物质的作用影响及检测方法研究日益增多, 本文对现有“瘦肉精”类物质对生理功能的影响及检测技术方法作一综述, 总结该类物质研究现状, 以期对其有更加全面的了解。

2 瘦肉精对人体的影响

2.1 瘦肉精的药理作用

“瘦肉精”并不特指一种药物, 而是泛指一类 β -肾上腺

*通讯作者: 李大伟, 硕士, 主要研究方向为体育教学与运动训练研究。E-mail: gkso331@126.com

*Corresponding author: LI Da-Wei, Master, Tongchuan Vocational and Technical College, Tongchuan 727031, China. E-mail: gkso331@126.com

素受体激动剂化合物,主要特点在于能够促进动物生长瘦肉、抑制肥肉生长。传统意义上的“瘦肉精”主要指盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱多巴胺,近年来又出现了新型“瘦肉精”如苯乙醇胺 A、赛庚啶、可乐定、巴氯芬等药物^[6-9]。虽然几种“瘦肉精”药物的结构并不十分相似,但却均具有肾上腺素受体激动剂效应,能够起到营养再分配,提高动物生长速率,改善胴体品质的作用。

我国常见的“瘦肉精”通常是指盐酸克伦特罗(clenbuterol hydrochloride, CLB)和莱克多巴胺(ractopamine, RAC), CLB 最初在临床上主要用于防治人、畜支气管哮喘和痉挛^[10],对支气管平滑肌有较明显的松弛作用; RAC 对肌肉萎缩症、心力衰竭症等疾病有疗效^[11,12]。试验证明,“瘦肉精”在体内吸收快但消除缓慢, CLB 半衰期长达 35 h, 主要分布于肝脏、肾、肺和肌肉^[13], RAC 主要分布于内脏中,在肌肉分布较少。现今,二者皆因其严重的副作用已被禁止用于治疗人类。

所谓“瘦肉精”能够提高瘦肉率的机制在于,此类物质可以与受体结合,通过肾上腺素刺激腺苷酸环化酶的合成,催化环磷酸腺苷的生成,增强激素敏感脂酶的活性,加快脂肪分解,使血液中游离脂肪酸进入肌肉量增加,为蛋白质的合成提供物质基础;同时,能够降低血液中抑制肌肉兴奋性的 Mg^{2+} 浓度,间接促进肌肉兴奋,改变细胞膜的通透性,参与机体内的代谢调控及营养重新分配^[14-16]。由于其独特的代谢特性,克伦特罗与莱克多巴胺已成为健身和体育界的一种滥用物质,某些体格健康的运动员将其作为肌肉增强剂或者营养再分配剂^[17-20]。

2.2 瘦肉精对生理功能的影响

人类对于 β -肾上腺素能激动剂特别敏感,“瘦肉精”亦被人们称作“害人精”,中毒的临床表现主要为心动过速、肌无力、肌肉颤抖、多汗、肌痛、眩晕、头痛、恶心、呼吸困难等,严重者可发生高血压危象^[21-23]。

对运动员而言,有研究者^[24]报道,长期使用盐酸克伦特罗反而会降低运动成绩,并且对使用者的心肌和心脏都会产生有害影响,国际奥林匹克委员会医学委员会和世界反兴奋剂组织已将一系列瘦肉精类药物列入被禁名单。

3 瘦肉精的检测技术

目前,许多国家对饲料和动物性食品中的 β_2 -兴奋剂实施了严格监控,相关的残留分析方法研究也很多。以盐酸克伦特罗为例,对其残留检测的方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、气相色谱联用质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱联用质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、

酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、毛细管电泳法、化学发光法、生物传感器技术等。

3.1 高效液相色谱

高效液相色谱法(HPLC)利用待测组分在流动相与固定相之间分配系数的差异,因保留时间不同而得以分离。该检测方法分辨率高,检测限低,一般尿液、肉类经提取浓缩或萃取后,检测限可达 $0.5 \mu\text{g/L}$,且假阳性率低,可一次检测多种参数^[25,26]。

但是,此法不足之处在于处理前期步骤多、耗时长、费用高,对仪器设备及检测人员的专业水平要求较高,难以在基层检测部门推广应用^[27,28]。

3.2 色谱质谱串联法

色谱质谱串联法分为气相色谱-质谱法(GC-MS)和液相色谱-质谱法(LC-MS),经气相或液相分离的样品分子电离裂解成分子离子,按照 m/z 大小先后到达检测器,实现样品定性定量分析。

与 HPLC 法相比,色谱质谱串联法具有更高的灵敏度和更低的检测限,假阳性率更低,因此我国将 GC-MS/LC-MS 法定为检测“瘦肉精”的确证性方法^[29,30],近年来关于此法的研究较多,Raul 等^[31]使用有机溶剂对尿液中的克伦特罗提取后蒸发浓缩,利用 UHPLC-MS/MS 进行测定,9 min 即可测得目标物,检测限为 5 pg/mL 。但它的缺点同 HPLC 相似,同样难以在基层推广应用。

3.3 毛细管电泳

毛细管电泳法(capillary electrophoresis, CE)适用于传统液相色谱法难分离的离子化样品的分离与分析,其分离效率可达几百万理论塔板数。CE 法具有很大的灵活性,许多分离参数(如缓冲液的组成、pH 值,毛细管的类型和使用的分离电压等)都可以调节,大大拓展了此法的适用范围,且所需样品量极少,有利于实际样品的分析^[32]。但是目前 CE 法同样存在一些亟待解决的问题:检测时间较长,需较复杂的仪器,目前尚缺乏合适的、配套的检测仪器。

3.4 胶体金免疫层析技术

目前,免疫层析技术是卫生监督部门对于“瘦肉精”药物实施快速监控的主要手段。胶体金免疫层析试纸条以条状纤维层析材料为固相,利用毛细作用使样品溶液在层析条上泳动,通过抗原抗体结合的免疫反应得到直观的结果^[33-36]。

此法操作简便,在 3 ~ 5 min 之内即可读出结果,操作人员不需要专业培训即可掌握,成本低廉,适用于现场快速检测和筛选工作。但是,在试纸条验证过程中,由于灵敏度有限,经常出现假阴性结果^[36]。

为改善灵敏度问题,还有许多研究寻找方法替代胶体金:荧光微球免疫层析用荧光微球代替了胶体金,提高

了方法检测灵敏度,且比胶体金显色更稳定^[37,38]。Qiang 等^[39]利用普鲁士蓝纳米粒子作为标记物,与传统的金纳米粒子相比,灵敏度提高了 5 倍;Liu 等^[40]研制了一种以细菌为信号载体的新型探针,表面负载了大量的金纳米粒子,所需的抗体大幅减少。

3.5 酶联免疫吸附

酶联免疫吸附法(ELISA)是一种经典的高灵敏酶免疫分析方法,检测过程中,受检标本与固相载体表面的抗原或抗体反应,洗涤后加入酶标记的抗原或抗体,也通过反应而结合在固相载体上,此时固相上的酶量与标本中受检物质的量呈一定的比例。加入酶反应的底物后,底物被酶催化成为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据呈色的深浅进行定性或定量分析^[41,42]。我国规定的检测方法中,使用酶联免疫吸附法测定克伦特罗检出限为 0.5 μg/kg^[43]。

该方法特异性强、灵敏度高,操作简单,对仪器设备的要求不高,检测速度快,同样适用于大批量样品的快速初步筛选,但重现性与特异性较高液相色谱法较差,易出现假阴性或假阳性^[44]。

3.6 新检测技术的应用

为使检测更加方便准确,近年来不断有新技术被开发。彭霞^[45]研究了瘦肉精的红外吸收光谱检测结果,通过特征图谱确定基团,推算结构,即可识别待测物质;而 Liu 等^[46]利用电化学方法,制备了 nafion-金胶修饰电极检测盐酸克伦特罗,检出限达到 1.0×10^{-7} mol/L,利用此法对人体血浆中的盐酸克伦特罗进行了检测,回收率为 98.19%,显示出较高的灵敏度与选择性。

4 展 望

“瘦肉精”短时间内可以增强运动员的肌肉组织,但该类药物对人体心脏损伤较大,长期服用易诱发肿瘤。据报道,一些运动员是在误食了含有瘦肉精残留的食品后尿检呈阳性,因此,建立快速、可靠的检测“瘦肉精”的分析方法对反兴奋剂也具有重要意义。目前,现场以胶体金试纸条与 ELISA 试剂盒为主要检测手段,但灵敏度与重现性较差,易出现假阴性或假阳性结果,仍需使用较为耗时的大型仪器进行确证。此外,拉曼、电化学等新型方法也在被不断尝试,力求寻找到稳定可靠又操作简易的方法。

参考文献

- [1] 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.
Yang CX, Su R, Peng JW. Hazard and control measures of "lean meatine" residue [J]. Chin Abst Anim Husb Vet Med, 2011, 27(6): 194.
- [2] 赵思俊, 郑增忍, 曲志娜, 等. “瘦肉精”的危害及监管检测技术[J]. 中国动物检疫, 2011, 28(4): 1-4.
Zhao SJ, Zheng ZR, Qu ZN, *et al.* The hazard of lean meat essence and its supervision and detection technique [J]. Chin Anim Quarant, 2011, 28(4): 1-4.
- [3] 张华. 瘦肉精的危害及检测方法[J]. 贵州农业科学, 2004, (1): 83-85.
Zhang H. Harm of lean meatine and its detection method [J]. Guizhou Agric Sci, 2004, (1): 83-85.
- [4] 马密霞, 胡文祥. 瘦肉精对健康的危害及其检测方法研究进展[C]. 中国化学会: 中国化学会, 2011.
Ma MX, Hu WX. Health hazards of lean meatine and its detection methods [C]. Chinese Chemical Society: China Chemical Society, 2011.
- [5] 胡萍, 余少文, 李红, 等. 中国 13 省 1999—2005 年瘦肉精食物中毒个案分析[J]. 深圳大学学报(理工版), 2008, (1): 1-8.
Hu P, Yu SW, Li H, *et al.* Analysis of food poisoning cases of lean meat essence in 13 provinces of China from 1999 to 2005 [J]. J Shenzhen Univ (Sci Technol), 2008, (1): 1-8.
- [6] 周彦珍, 郑丹丹. “瘦肉精”的危害、检测技术和监管[J]. 农业灾害研究, 2013, 3(Z2): 51-56.
Zhou YZ, Zheng DD. Hazards of "lean meatloin", detection techniques and regulation [J]. J Agric Catastrophol, 2013, (Z2): 51-56.
- [7] 禁止在饲料和动物饮用水中使用的药品目录[Z].
List of drugs prohibited for use in feed and animal drinking water [Z].
- [8] 禁止在饲料和动物饮水中使用的物质名单[Z].
List of substances prohibited for use in feed and animal drinking water [Z].
- [9] 罗奕铭. 新型瘦肉精多残留胶体金检测卡的研制[J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 233-238, 133.
Luo YM. Development of a new type of lean meat multi-residue colloidal gold detection card [J]. Mod Food Sci Technol, 2018, 34(1): 233-238, 133.
- [10] 张清安, 范学辉. 动物性食品中盐酸克伦特罗(瘦肉精)残留危害及其检测方法研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2004, (9): 108-111, 119.
Zhang QA, Fan XH. Research progress of clenbuterol hydrochloride residues in animal foods and their detection methods [J]. Food Ferment Ind, 2004, (9): 108-111, 119.
- [11] 金慧. 肉组织中莱克多巴胺检测方法的研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
Jin H. Study on detection method of ractopamine in meat tissue [D]. Wuhan: Wuhan University, 2017.
- [12] Jelka P, Ana V, Nina P. Clenbuterol residues in pig muscle after repeat administration in a growth-promoting dose [J]. Meat Sci, 2010, (3): 733-737.
- [13] 高志存, 崔惠娟, 段平波, 等. “瘦肉精”的危害、检测方法及其监管对策[J]. 云南畜牧兽医, 2012, (4): 33-34.
Gao ZC, Cui HJ, Duan PB, *et al.* The harm, detection method and supervision countermeasure of lean meat essence [J]. Yunnan Livestock Vet, 2012, (4): 33-34.
- [14] Sauern MJ, Pickett RJH, Limer S, *et al.* Distribution and elimination of clenbuterol in tissues and fluids of calves following prolonged oral administration at a grow-promoting dose [J]. J Vet Pharm Ther, 1995, 18: 81-86.
- [15] 张吟, 陈一农. 克伦特罗药理作用的研究进展[J]. 海峡药学, 2002, 14(5): 10-11.
Zhang L, Chen YN. Advances in the study of clenbuterol pharmacological action [J]. Strait Pharm J, 2002, 14(5): 10-11.
- [16] 宋兴国, 陈杰. 瘦肉精的快速检测方法[J]. 山东畜牧兽医, 2003, 3: 28-29.
Song XG, Chen J. A rapid method for the detection of lean meatine [J]. Shandong Anim Husb Vet Med, 2003, 3: 28-29.
- [17] 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.

- Lu P. The harm of "lean meatine" and its detection method [J]. *Anim Husb Feed Sci*, 2012, 3(3): 54–55.
- [18] 张玲, 邵春花. 瘦肉精的危害及其预防措施[J]. *新疆农垦科技*, 2003, 6: 19–20.
- Zhang L, Shao CH. The harm of lean meatine and its preventive measures [J]. *Xinjiang Agric Reclam Sci Technol*, 2003, 6: 19–20.
- [19] 栗艳. “瘦肉精”的危害及防治[J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2011, 27(4): 175.
- Li Y. Hazard and prevention of "lean meat essence" [J]. *Chin Livestock Vet Abst*, 2011, 27(4): 175.
- [20] 周莲娟. 瘦肉精对健康的危害及其食品安全监管对策[J]. *中国卫生监督杂志*, 2007, 14(6): 431–433.
- Zhou LJ. Hazard of lean meatine to health and countermeasures of food safety supervision [J]. *Chin J Health Superv*, 2007, 14(6): 431–433.
- [21] 王赏初. 瘦肉精的危害、检测方法及其监管[J]. *湖南饲料*, 2011, (6): 39–41, 48.
- Wang SH. Harm of lean meatine, detection method and supervision [J]. *Hunan Feed*, 2011, (6): 39–41, 48.
- [22] 周莲娟. 瘦肉精对健康的危害及其食品安全监管对策[J]. *中国卫生监督杂志*, 2007, 14(6): 431–433.
- Zhou LJ. Health hazards of lean meatine and its food safety supervision measures [J]. *Chin J Health Superv*, 2007, 14(6): 431–433.
- [23] 白晓亮. 瘦肉精的危害及识别[J]. *兽药信息*, 2011, (5): 93–94.
- Bai XL. Hazard and identification of lean meat [J]. *Vet Inf*, 2011, (5): 93–94.
- [24] Brockway M, MacRae JC. Side effects of clenbuterol as repartitioning agent [J]. *Vet Rec*, 1987, 20: 381–383.
- [25] 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): 37–39.
- Huang XJ, Zhu YR. Comparison and application of clenbuterol hydrochloride determination method [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2011, (15): 37–39.
- [26] Naoto F. An isocratic solvent-free mobile phase HPLC-PDA analysis of clenbuterol and ractopamine [J]. *Int J Chem Anal Sci*, 2013, 4(3): 169–173.
- [27] 裴小英. 四种常见瘦肉精检测方法比较分析[J]. *国外畜牧学(猪与禽)*, 2014, 34(10): 65.
- Pei XY. Comparative analysis of four common methods for the detection of lean meatine [J]. *Foreign Anim Sci (Pigs Poult)*, 2014: 34(10): 65.
- [28] 康笑枫, 徐淑元. 动物组织中盐酸克伦特罗的快速检测[J]. *饲料研究*, 2003, (10): 25–27.
- Kang XF, Xu SY. Rapid detection of clenbuterol hydrochloride in animal tissues [J]. *Feed Res*, 2003, (10): 25–27.
- [29] GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定液相色谱串联质谱法[S].
- GB/T 22286-2008 Determination of various β -agonist residues in animal-derived foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].
- [30] 俞慧红. GC-MS 法测定动物组织中盐酸克伦特罗前处理方法的探讨[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(4): 130–132.
- Yu HH. Determination of clenbuterol hydrochloride pretreatment in animal tissues by GC-MS [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2016, 44(4): 130–132.
- [31] Raul N, Michael P, Flavia B. Quantification of clenbuterol at trace level in human urine by ultra-high pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1292: 142–150.
- [32] 马健, 张明洲, 李晓, 等. 高效毛细管电泳法用于猪尿中莱克多巴胺含量的测定[J]. *浙江农业学报*, 2006, 18(5): 333–336.
- Ma J, Zhang MZ, Li X, *et al.* Determination of ractopamine in pig urine by high performance capillary electrophoresis [J]. *Zhejiang J Agric*, 2006, 18(5): 333–336.
- [33] Sun Y, Hu X, Zhang Y, *et al.* Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of zearalenone in corn [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(46): 11116–11121.
- [34] Zhang GP, Wang XN, Yang JF, *et al.* Development of an immunochromatographic lateral flow test strip for detection of β -adrenergic agonist clenbuterol residues [J]. *J Immunol Method*, 2006, 312(1–2): 27–33.
- [35] Wang Y, Li Z, Pei Y, *et al.* Establishment of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the rapid detection of soybean allergen β -conglycinin [J]. *Food Anal Method*, 2017, 10(7): 2429–2435.
- [36] 聂雯莹, 罗晓琴, 李金超, 等. 动物尿液中苯乙醇胺 A 胶体金快速检测方法的建立[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(19): 3931–3940.
- Nie WY, Luo XQ, Li JC, *et al.* Establishment of a rapid method for the determination of phenylethanolamine a colloidal gold in animal urine [J]. *Agric Sci China*, 2015, 48(19): 3931–3940.
- [37] 刘映雪, 王虎. “瘦肉精”现场快速检测技术研究进展[J]. *新农业*, 2018, (19): 33–34.
- Liu YX, Wang H. Advances in field rapid detection of lean meatine [J]. *New Agric*, 2018, (19): 33–34.
- [38] Zhao BX, Huang Q, Dou LN, *et al.* Prussian blue nanoparticles based lateral flow assay for high sensitive determination of clenbuterol [J]. *Sensor Actuat B, Chem*, 2018, 275: 223–229.
- [39] Qiong H, Tong B, Wentao Z. An improved clenbuterol detection by immunochromatographic assay with bacteria@Au composite as signal amplifier [J]. *Food Chem*, 2018, 262: 48–55.
- [40] Liu Z, Zhi A, Zhao L, *et al.* Development of an ELISA for detection of Sudan I in food samples using monoclonal antibody [J]. *Food Agric Immunol*, 2014, 25(4): 556–568.
- [41] Li Y, Lu S, Liu Z, *et al.* A monoclonal antibody based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of phenylethanolamine A in tissue of swine [J]. *Food Chem*, 2015, 167: 40–44.
- [42] Wang X, Liufu T, Beloglazova NV, *et al.* Development of a competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay for screening phenylethanolamine a residues in pork samples [J]. *Food Anal Method*, 2016, 9(11): 3099–3106.
- [43] GB/T 5009. 192-2003 动物性食品中克伦特罗残留的测定[S].
- GB/T 5009. 192-2003 Determination of clenbuterol residues in animal food [S].
- [44] Tang YW, Gao JW, Liu XY, *et al.* Ultrasensitive detection of clenbuterol by a covalent imprinted polymer as a biomimetic antibody [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 62–69.
- [45] 彭霞. 瘦肉精及纳米过渡金属修饰电极的制备及应用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2009.
- Peng X. Preparation and application lean meatine and nanometallic transition metal modified electrode [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2009.
- [46] Liu LJ, Pan HB, Du M. Glassy carbon electrode modified with Nafion-Au colloids for clenbuterol electroanalysis [J]. *Electrochim Acta*, 2010, (55): 7240–7245.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

李大伟, 硕士, 主要研究方向为体育教学与运动训练研究。
E-mail: gkso331@126.com