

# 酶联免疫分析方法测定动物性食品中西马特罗残留

张燕<sup>1</sup>, 陈启镌<sup>1</sup>, 罗美芬<sup>1</sup>, 孙魁魁<sup>1</sup>, 曾道平<sup>2</sup>, 杨金易<sup>3\*</sup>

(1. 广东产品质量监督检验研究院, 顺德 528300; 2. 温氏食品集团股份有限公司, 云浮 527499;  
3. 华南农业大学食品学院, 广州 510642)

**摘要:** 目的 建立检测西马特罗药物残留的酶联免疫分析方法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。方法 对主要影响因素, 包括包被原稀释倍数、抗体稀释倍数、竞争时间、标准品稀释液 pH 等参数进行优化, 对样品进行前处理, 经提取净化后进行检测, 并对 ELISA 检测结果与仪器方法进行对比。结果 西马特罗 ELISA 方法的最佳反应条件为: 抗原稀释倍数为 100000, 抗体稀释倍数为 150000, 标品稀释液 pH 为 7.5, 竞争反应时间为 20 min。在最佳反应条件下, 绘制标准曲线, 西马特罗的  $IC_{50}$  为 1.32  $\mu\text{g/L}$ , 线性范围为 0.16~6.95  $\mu\text{g/L}$ , 检出限为 0.09  $\mu\text{g/L}$ 。西马特罗在 0.16、0.32、1.6  $\mu\text{g/kg}$  添加水平的回收率分别为 80.31%~113.81%, 变异系数低于 10%, 且实际样品的测定结果与超高效液相串联质谱法的相关性良好 ( $r^2=0.9962$ )。结论 本研究建立的 ELISA 方法具有较高的灵敏性, 适合西马特罗残留检测。

**关键词:** 动物性食品; 酶联免疫分析方法; 西马特罗

## Determination of cimaterol residue in animal-organ foods by enzyme-linked immunosorbent assay

ZHANG Yan<sup>1</sup>, CHEN Qi-Juan<sup>1</sup>, LUO Mei-Fen<sup>1</sup>, SUN Kui-Kui<sup>1</sup>, ZENG Dao-Ping<sup>2</sup>, YANG Jin-Yi<sup>3\*</sup>

(1. Guangdong Testing Institute of Product Quality Supervision, Shunde 528300, China; 2. Wens Food Group Co., Ltd., Yunfu 527499, China; 3. College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the detection of cimaterol drug residues by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods** The main influencing factors, including coating original dilution multiple, antibody dilution multiple, competition time, pH of standard diluent and other parameters were optimized. The samples were pretreated, extracted and purified, and detected. The ELISA test results were compared with the instrument method. **Results** The optimal reaction conditions for the detection of cimaterol by ELISA method were as follows: dilution ratio of antigen was 100000, dilution ratio of antibody was 150000, pH of standard diluent was 7.5, and competitive reaction time was 20 min. Under the optimal reaction conditions, the standard curve was drawn. The  $IC_{50}$  of cimaterol was 1.32  $\mu\text{g/L}$ , the linear range was 0.16–6.95  $\mu\text{g/L}$ , and the limit of detection was 0.09  $\mu\text{g/L}$ . The recoveries of cimaterol at the addition levels of 0.16, 0.32, and 1.6  $\mu\text{g/kg}$  were 80.31%–113.81%, respectively, and the coefficient of variation was less than 10%. The correlation between the results of the actual samples and UPLC-MS/MS was good ( $r^2=0.9962$ ). **Conclusion** The ELISA method established in this study has high sensitivity

\*通信作者: 杨金易, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: yjy361@163.com

\*Corresponding author: YANG Jin-Yi, Ph.D, Associate Professor, College of Food Sciences, Guangzhou 510642, China. E-mail: yjy361@163.com

and is suitable for the detection of cimaterol residues.

**KEY WORDS:** animal-organ foods; enzyme-linked immunosorbent assay; cimaterol

## 0 引言

西马特罗(cimaterol, CIM)又名喜马特罗、塞曼特罗,是继莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇之后的新一代 $\beta$ -肾上腺素受体类激动剂,研究比较广泛<sup>[1]</sup>。西马特罗是一种新型的呼吸系统类用药,适用于支气管扩张等的治疗<sup>[2-4]</sup>。同时,在畜牧业中较大剂量地使用西马特罗可以减少酮体脂肪的合成,增加牛、猪、鸡、鸭、羊等动物的瘦肉率,提高肌肉中蛋白质的含量<sup>[5-7]</sup>和饲料报酬率<sup>[8-10]</sup>,因此作为非法饲料添加剂用于动物源性食品生产中<sup>[11-13]</sup>。如果长期食用含有西马特罗的食品将会引发中毒,危及身体健康及生命安全<sup>[14]</sup>。我国农业部公告第193号文件<sup>[15]</sup>明确规定西马特罗禁止在畜禽生产和动物食品中添加。目前已建立的检测方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[16-17]</sup>、液相色谱-质谱联用法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)<sup>[18-22]</sup>、超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)<sup>[23-27]</sup>、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)<sup>[28]</sup>、高效毛细管区带电泳法(capillary zone electrophoresis, CZE)<sup>[29-30]</sup>等。这些方法都存在一定的缺陷,仪器方法准确性高,但样品处理烦琐费时、成本高且需要专业人员来操作,无法满足现场检测<sup>[31-32]</sup>。而免疫分析方法则具有灵敏度高、特异性强、检出范围广、样品前处理简单快速、成本低等特点<sup>[33-40]</sup>。

本研究通过对抗原抗体稀释倍数、标准品稀释液 pH、竞争时间等参数进行优化,摸索最适条件,建立测定西马特罗的酶联免疫分析方法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),为满足动物性食品中西马特罗药物的实际检测需求提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

猪肉、鸡肉、牛肉样品均购自市场;西马特罗包被原、西马特罗抗体均为实验室制备并保存;西马特罗(纯度为99%,国药集团化学试剂有限公司上海分公司);辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG(1 mg/mL)、辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG(1 mg/mL)(安诺伦生物科技有限公司);酶标板(深圳金灿华实业有限公司);乙腈(色谱纯,德国默克公司);甲酸(优级纯,德国 CNW 公司);乙腈(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);盐酸(分析纯,广东广试试剂科技有限公司);磷酸二氢钾(分析纯,广州化学试剂厂);氢氧化

钠(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

Wellwash MK<sub>2</sub> 洗板机、Multiskan MK<sub>3</sub> 酶标仪(美国 Thermo 公司);6K15 高速冷冻离心机(德国 Sartorius 公司);微量移液器(美国 Eppendorf 公司);ACQUITYTM 超高效液相色谱、Waters XevoTM TQD MS 三重四极杆串联质谱仪(美国 Waters 公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 ELISA 法操作步骤

##### (1)包被

包被抗原用包被液稀释至合适浓度,每孔加入 100  $\mu$ L,置于 37  $^{\circ}$ C 电热恒温水槽或烘箱中包被过夜。

##### (2)封闭

用洗涤液洗涤包被板 2 次,每孔加入 120  $\mu$ L 配好的封闭液,置于 37  $^{\circ}$ C 的电热恒温水浴箱或烘箱中封闭 3 h,取出,甩干各孔中的液体,置于 37  $^{\circ}$ C 的烘箱中烘干,备用。

##### (3)竞争反应

在制备好的板中每孔加入 50  $\mu$ L 系列浓度的标准品溶液和 50  $\mu$ L 稀释好的抗体溶液,室温震荡反应一定时间后置于 37  $^{\circ}$ C 电热恒温水浴箱中孵育。

##### (4)洗板

用洗涤液洗涤 5 次,在吸水纸上拍干板孔中液体。

##### (5)二抗反应

每孔加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗鼠/羊抗兔二抗 100  $\mu$ L/孔,37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min。

##### (6)洗板

用洗涤液洗涤 5 次,在吸水纸上拍干板孔中液体。

##### (7)显色反应

每孔加入底物 A 液与底物缓冲液 B 液 1:1 等体积混合的溶液 100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 电热恒温水浴箱孵育 15 min。

##### (8)终止

每孔各加入终止液 50  $\mu$ L,在酶标仪上测定各孔的吸光值  $A_{450\text{ nm}}$ 。

##### (9)数据分析

横坐标为西马特罗药物的标准溶液浓度的对数,纵坐标为吸光度比值百分比  $B/B_0\%$ ,采用 Origin 8.5 软件进行拟合竞争曲线,数据分析。

#### 1.3.2 ELISA 方法的优化

##### (1)包被原和抗体的稀释倍数

取酶标板,用包被液将包被抗原作一系列稀释,稀释倍数分别为 50000、75000、100000、125000,用抗体稀释

液将抗体进行稀释, 稀释倍数为 100000、125000、150000、175000, 按照 1.3.1 的步骤操作, 计算出标准曲线的最大吸光度值  $A_{\max}$ 、 $IC_{50}$  和  $A_{\max}/IC_{50}$ , 绘制曲线。

### (2) 优化竞争时间和标准品稀释液的 pH

以 10、15、20、25、30 min 竞争时间来反应, 按照 1.3.1 的步骤操作, 计算出标准曲线的  $A_{\max}$ 、 $IC_{50}$  和  $A_{\max}/IC_{50}$ , 绘制曲线。

分别设定标准品稀释液的 pH 为 4.5、5.5、6.5、7.5、8.5, 按照 1.3.1 的步骤操作, 进行最佳 pH 优化。

### 1.3.3 样品前处理方法

参照文献<sup>[12]</sup>方法对样品进行前处理。称取捣碎的样品 5 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 50 mmol/L HCl 超声振动 30 min, 以达到均质。称取 5 g 均质物(相当于 1 g 肌肉), 加入离心管中 10 °C 离心 15 min。取上清液至另一个离心管中, 加 300  $\mu$ L 1 mol/L NaOH, 超声混合 15 min。加入 4 mL 500 mmol/L  $KH_2PO_4$ (调节 pH 至 3.0 左右), 迅速混匀置于 4 °C 冰箱内保存 90 min。取出后 10 °C 离心 15 min, 分离上清液待测。

### 1.3.4 添加回收实验

在空白样品中分别添加不同质量浓度(0.16、0.32、1.6  $\mu$ g/kg)西马特罗标准品, 经过前处理后, 用试剂盒进行检测, 计算回收率。用同一批次试剂盒对同批样品进行检测, 每个样品设 4 个重复, 计算批内变异系数、批间变异系数。

### 1.3.5 仪器方法验证

参照农业部 1025 号公告-11-2008 中的 UPLC-MS/MS 法。配制 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0  $\mu$ g/L 西马特罗标准溶液, 通过 UPLC-MS/MS 进行检测。

## 1.4 数据统计分析

以西马特罗标准品浓度的对数值为横坐标( $X$ ), 吸光度比值百分比  $B/B_0\%$  为纵坐标( $Y$ ), 应用 Origin 8.5 软件拟合竞争标准曲线<sup>[41]</sup>; 根据样品吸光度  $A$  值, 由标准曲线查出相应的浓度, 乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。使用 Origin 8.5 软件绘制相关 ELISA 图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 ELISA 最优条件的优化

#### 2.1.1 包被原、抗体最适稀释倍数的确定

本研究以  $A_{\max}$ 、 $IC_{50}$  和  $A_{\max}/IC_{50}$  作为评价各影响因素的标准,  $IC_{50}$  越小, 方法的灵敏度越高<sup>[36,42]</sup>。选择  $A_{450\text{ nm}}$  适中、 $IC_{50}$  较低、 $A_{\max}/IC_{50}$  较高的稀释倍数作为最佳包被原和抗体的稀释倍数。由图 1、2 看出, 当包被抗原稀释倍数较低时,  $IC_{50}$  和  $A_{\max}$  都为最高值; 随着稀释倍数增加,  $IC_{50}$  和  $A_{\max}$  逐渐降低, 在包被原稀释倍数为 100000 倍时,  $IC_{50}$  和  $A_{\max}/IC_{50}$  分别达到最低值和最高值; 继续减少包被抗原

包被浓度,  $IC_{50}$  升高、 $A_{\max}/IC_{50}$  降低到最低值。因此, 确定 100000 倍作为包被原的最佳稀释倍数。同理, 确定稀释倍数 150000 作为抗体的最佳稀释倍数。

#### 2.1.2 竞争时间和标准品稀释液 pH 的确定

抗原抗体能否充分结合与其反应时间长短有关, 所以要对反应时间进行优化<sup>[43]</sup>。如图 3 所示, 在竞争反应时间为 20 min 时,  $A_{\max}/IC_{50}$  达到最大值; 继续延长反应时间,  $IC_{50}$  逐渐增大,  $A_{\max}/IC_{50}$  逐渐减小。因此, 选择 20 min 作为抗体的最佳竞争反应时间。

在 ELISA 反应体系中, 通过改变 pH 值, 影响药物在体系中的溶解度, 进而影响抗原抗体之间的反应。如图 4 可知, pH 值为 7.5 时,  $IC_{50}$  值对应的  $A_{\max}$  较大,  $A_{\max}/IC_{50}$  比值也较大。综上所述, 标准品溶液的最佳 pH 值为 7.5。

#### 2.1.3 标准曲线的建立

按照上述 ELISA 条件优化结果, 以西马特罗标准品溶液浓度对数为横坐标( $X$ ), 以吸光度比值百分比  $B/B_0\%$  为纵坐标( $Y$ ), 绘制标准曲线, 结果如图 5 所示。西马特罗标准曲线的线性检测范围( $IC_{20}\sim IC_{80}$ )为 0.16~6.95  $\mu$ g/L, 检出限(limit of detection)LOD 为 0.09  $\mu$ g/L,  $IC_{50}$  为 1.32  $\mu$ g/L。

## 2.2 精密度实验

ELISA 方法的精密度以批内变异和批间变异来表示。本研究选取同一批的产品, 做 6 个平行标准曲线, 计算各个药物浓度的批内变异系数。选取 3 个批次试剂盒, 做标准曲线, 每批试剂盒测定结果取均值, 计算批间变异系数。结果如表 1 所示, 试剂盒批内和批间变异系数均小于 10%, 表明实验重复性较好。

## 2.3 特异性实验

交叉实验结果如表 2 所示, 除了同盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、苯乙醇胺 A 外, 与其他结构类似或功能类似的化合物交叉反应率小于 1%, 受其他化合物影响较小, 表明 ELISA 方法特异性良好。

## 2.4 空白样品添加实验

采用猪肉、牛肉、鸡肉做样品添加回收实验, 选取方法定量限的 1 倍、2 倍、10 倍的 3 个添加水平浓度(0.16、0.32、1.6  $\mu$ g/kg), 结果如表 3 所示。所测样品中西马特罗的添加回收率在 80.31%~113.81%之间, 批内和批间变异系数均小于 10%。方法准确度能达到检测要求, 适用于动物性食品中西马特罗的检测。

## 2.5 UPLC-MS/MS 仪器方法对比

通过比较 ELISA 试剂盒与 UPLC-MS/MS 的相关性, 验证本研究建立的 ELISA 法测定西马特罗的准确性。本研究分别采用建立的西马特罗 ELISA 法与 UPLC-MS/MS 法对加标的样品进行检测, 对检验结果进行分析比较。以 UPLC-MS/MS 法所测得的西马特罗的浓度为  $Y$  轴, 以

ELISA 测得的西马特罗的浓度为  $X$  轴, 绘制散点图 6。结果如表 4 所示, 西马特罗的回归方程为  $Y=1.0118X+0.056$ ,  $r^2$  为 0.9962。说明建立的西马特罗的 ELISA 方法的测定结果准确可靠。

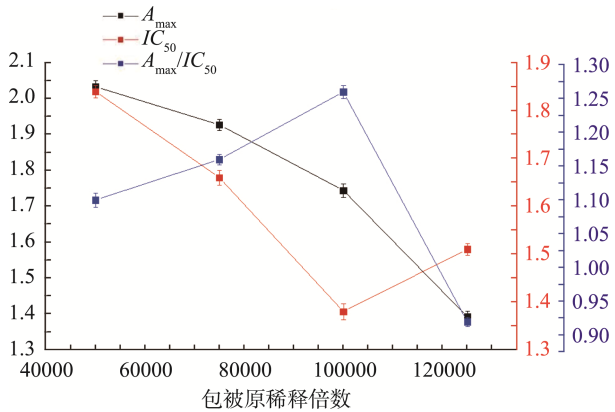


图 1 包被原稀释倍数的优化( $n=3$ )  
Fig.1 Optimization of dilution ratios of coating antigen for CIM ( $n=3$ )

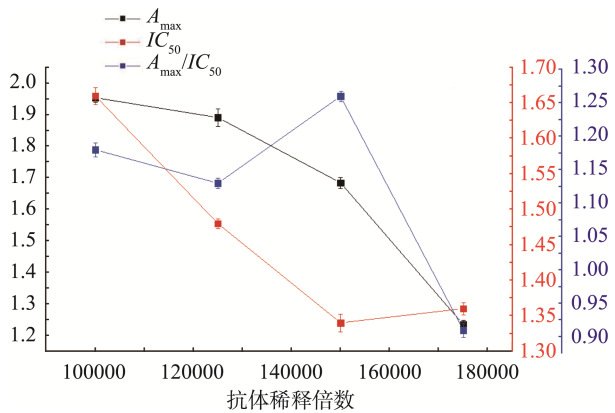


图 2 抗体稀释倍数的优化( $n=3$ )  
Fig.2 Optimization of dilution ratios of anti-CIM antibody ( $n=3$ )

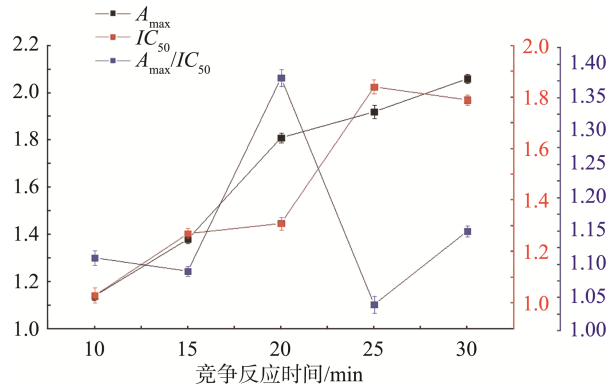


图 3 西马特罗竞争时间的优化( $n=3$ )  
Fig.3 Optimization of competition time for CIM ( $n=3$ )

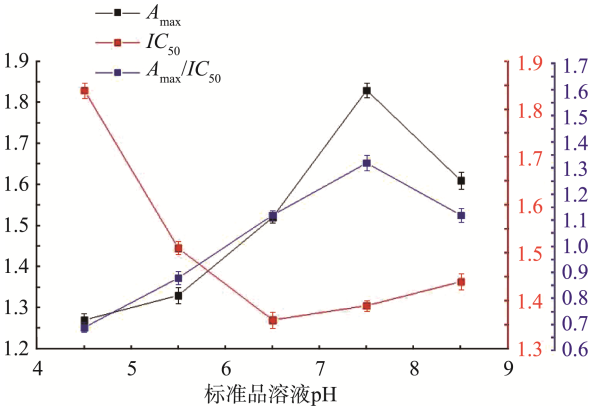


图 4 西马特罗的标准品稀释液 pH 的优化( $n=3$ )  
Fig.4 Optimization of standard dilution pH for CIM ( $n=3$ )

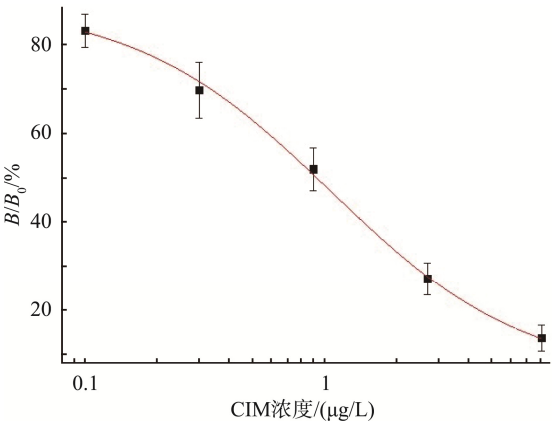


图 5 ELISA 检测西马特罗的标准曲线( $n=3$ )  
Fig.5 Standard curves for enzyme-linked immunosorbent assay of CIM ( $n=3$ )

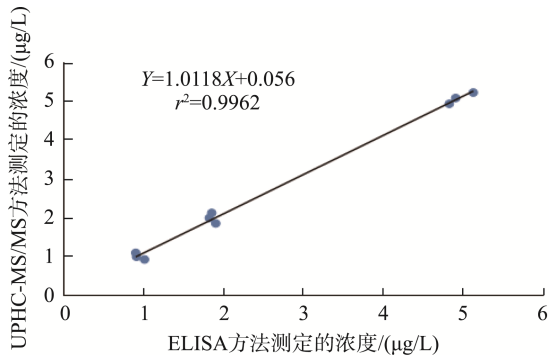


图 6 西马特罗 ELISA 与 UPLC-MS/MS 方法对比  
Fig.6 Comparison of ELISA and UPLC-MS/MS methods for CIM

表 1 西马特罗批内和批间变异  
Table 1 Intra-batch and inter-batch variation of CIM

| 质量浓度/( $\mu\text{g/L}$ ) | 批内差异                                         |        | 批间差异                                         |        |
|--------------------------|----------------------------------------------|--------|----------------------------------------------|--------|
|                          | 平均检测值 $\pm$ 标准差/( $\mu\text{g/L}$ )( $n=6$ ) | 变异系数/% | 平均检测值 $\pm$ 标准差/( $\mu\text{g/L}$ )( $n=3$ ) | 变异系数/% |
| 0.1                      | 0.093 $\pm$ 0.035                            | 7.32   | 0.095 $\pm$ 0.038                            | 5.47   |
| 0.3                      | 0.28 $\pm$ 0.053                             | 6.67   | 0.31 $\pm$ 0.062                             | 3.33   |
| 0.9                      | 0.83 $\pm$ 0.087                             | 7.78   | 0.94 $\pm$ 0.103                             | 4.44   |
| 2.7                      | 2.55 $\pm$ 0.142                             | 5.56   | 2.93 $\pm$ 0.127                             | 8.52   |
| 8.1                      | 8.53 $\pm$ 0.193                             | 5.31   | 8.38 $\pm$ 0.184                             | 3.46   |

表 2 西马特罗结构类似物药物交叉反应率  
Table 2 Cross-reactivity of anti-CIM pAb determined by ELISA

| 药物名称    | $IC_{50}/(\mu\text{g/L})$ | 交叉反应率/%     |
|---------|---------------------------|-------------|
| 西马特罗    | 1.36                      | 100.00      |
| 盐酸莱克多巴胺 | 289.51                    | 0.47        |
| 盐酸克伦特罗  | 0.58                      | 234.48      |
| 沙丁胺醇    | 17.64                     | 7.71        |
| 溴布特罗    | >4000                     | $\leq 0.01$ |
| 马布特罗    | >4000                     | $\leq 0.01$ |
| 苯乙醇胺 A  | 2.32                      | 58.62       |

表 3 西马特罗的实际样品添加回收率和变异系数( $n=4$ )  
Table 3 Recovery and coefficient variation of CIM determined by ELISA in samples ( $n=4$ )

| 药物   | 品种 | 添加量/( $\mu\text{g/kg}$ ) | 平均检测值 $\pm$ 标准偏差/( $\mu\text{g/kg}$ ) | 平均回收/% | 批内变异/% | 批间变异/% |
|------|----|--------------------------|---------------------------------------|--------|--------|--------|
| 西马特罗 | 猪肉 | 0.16                     | 0.146 $\pm$ 0.021                     | 91.25  | 8.41   | 6.97   |
|      |    | 0.32                     | 0.285 $\pm$ 0.045                     | 89.06  | 6.32   | 7.31   |
|      |    | 1.6                      | 1.821 $\pm$ 0.073                     | 113.81 | 5.83   | 9.03   |
|      | 牛肉 | 0.16                     | 0.173 $\pm$ 0.034                     | 108.12 | 4.64   | 7.16   |
|      |    | 0.32                     | 0.307 $\pm$ 0.064                     | 95.93  | 5.83   | 5.49   |
|      |    | 1.6                      | 1.438 $\pm$ 0.103                     | 89.87  | 9.43   | 7.17   |
|      | 鸡肉 | 0.16                     | 0.137 $\pm$ 0.032                     | 85.62  | 7.46   | 8.95   |
|      |    | 0.32                     | 0.257 $\pm$ 0.047                     | 80.31  | 5.57   | 7.91   |
|      |    | 1.6                      | 1.524 $\pm$ 0.095                     | 95.25  | 8.94   | 6.26   |
|      |    |                          |                                       |        |        |        |

表 4 西马特罗样品 ELISA 和 UPLC-MS/MS 方法对比  
Table 4 Comparison of ELISA and UPLC-MS/MS methods for CIM

| 样品 | 添加浓度/(μg/L) | UPLC-MS/MS 法测定 |         | ELISA 法测定    |         |
|----|-------------|----------------|---------|--------------|---------|
|    |             | 平均实测值/(μg/L)   | 平均回收率/% | 平均实测值/(μg/L) | 平均回收率/% |
| 猪肉 | 1.0         | 0.91           | 91.28   | 1.02         | 102.31  |
|    | 2.0         | 1.98           | 99.07   | 1.83         | 91.65   |
|    | 5.0         | 5.07           | 101.44  | 4.91         | 98.28   |
| 牛肉 | 1.0         | 0.98           | 98.31   | 0.92         | 92.12   |
|    | 2.0         | 1.84           | 91.95   | 1.91         | 95.35   |
|    | 5.0         | 5.21           | 104.22  | 5.13         | 102.54  |
| 鸡肉 | 1.0         | 1.08           | 108.17  | 0.91         | 91.23   |
|    | 2.0         | 2.07           | 103.70  | 1.86         | 92.95   |
|    | 5.0         | 4.92           | 98.36   | 4.83         | 96.68   |

3 结 论

本研究建立了检测动物性食品中西马特罗残留的 ELISA 检测方法, 线性范围为 0.16~6.95 μg/L, IC<sub>50</sub> 为 1.32 μg/L, 检出限为 0.09 μg/L。除了同盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、苯乙醇胺 A 有部分交叉外, 受其他化合物影响较小, 本方法的特异性良好。在最佳条件下, 西马特罗的添加回收率分别为 80.31%~113.81%, 变异系数均低于 10%; 经仪器方法确证, 本方法检测结果准确可靠, 可以满足动物性食品中西马特罗药物的实际检测需求。与司艳芳等<sup>[6]</sup>、职爱民等<sup>[11]</sup>、YOON 等<sup>[44]</sup>酶联免疫检测方法相比, 本方法在灵敏度方面具有明显优势, 能够应用于动物性食品中西马特罗残留药物的检测, 具有良好的应用前景。

参考文献

[1] 李挥, 张敬轩, 宋合兴, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定肌肉组织中 6 种  $\beta$ -受体激动剂残留[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(12): 2273-2277.  
LI H, ZHANG JX, SONG HX, *et al.* HPLC-TMS determination of 6 kinds of  $\beta$ -agonist residues in muscle tissue [J]. Chin J Pharm Anal, 2011, 31(12): 2273-2277.

[2] 郭萍, 陈建安, 张景平, 等. 动物源产品中  $\beta$ -兴奋剂残留状况与防控分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(12): 2673-2677.  
GUO P, CHEN JA, ZHANG JP, *et al.* Prevention and control analysis of  $\beta$ -agonists residues in animal-derived products [J]. Chin J Health Lab Technol, 2013, 23(12): 2673-2677.

[3] 李春生, 李君华, 武孝利, 等. 西马特罗免疫抗原合成方法的比较[J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(8): 61-64.  
LI CS, LI JH, WU XL, *et al.* Comparison of methods of simatrol immunoantigen synthesis [J]. Anim Husb Vet Med, 2014, 46(8): 61-64.

[4] 黄泓, 夏苏捷, 刘畅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和猪肝中 22 种  $\beta$ -激动剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(4): 1155-1158.  
HUANG H, XIA SJ, LIU C, *et al.* Determination of 22  $\beta$ -agonists in pork

and pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(4): 1155-1158.

[5] 熊琳, 萍阔, 高雅琴, 等. 肉品生产中禁用药物西马特罗研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(1): 290-295.  
XIONG L, PING Y, GAO YQ, *et al.* Review of forbidden drug cimaterol in meat production [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(1): 290-295.

[6] 司艳芳, 李鹏, 郭东光, 等. 西马特罗多克隆抗体的制备及其免疫学检测方法的建立[J]. 河南农业科学, 2020, 49(6): 157-164.  
SI YE, LI P, GUO DG, *et al.* Development of cimaterol polyclonal antibody and establishment of immunological detection method [J]. J Henan Agric Sci, 2020, 49(6): 157-164.

[7] 吴小胜, 臧勇军, 李斌, 等. 西马特罗单克隆抗体制备以及酶联免疫试剂盒的研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(6): 169-173.  
WU XS, ZANG YJ, LI B, *et al.* Production of cimaterol monoclonal antibody and its enzyme linked immunosorbent assay kit [J]. Chin Brew, 2020, 39(6): 169-173.

[8] DU XD, WU YL, YANG HJ, *et al.* Simultaneous determination of 10  $\beta_2$ -agonists in swine urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and multi-walled carbon nanotubes as a reversed dispersive solid phase extraction sorbent [J]. J Chromatogr A, 2012, (1260): 25-32.

[9] 李鹏, 郭燕, 矫胜田. 新型瘦肉精西马特罗胶体金快速检测卡的制备[J]. 肉类工业, 2019, 12: 43-56.  
LI P, GUO Y, JIAO ST. Preparation of a new type of quick detection card for cimaterol colloidal gold with lean meat essence [J]. Meat Ind, 2019, 12: 43-56.

[10] HAN IK, CHOI YJ, LEE MH, *et al.* Studies on the determination of optimum levels of energy and protein in broiler chicks fed diet containing cimaterol (CL 263, 780) [J]. J Endocrinol Metab, 2015, 19(6): 854-855.

[11] 职爱民, 刘庆堂, 李青梅, 等. 西马特罗人工抗原的合成及鼠源多克隆抗血清的制备[J]. 华北农学报, 2010, 25(4): 97-101.  
ZHI AM, LIU QT, LI QM, *et al.* Synthesis of cimaterol artificial antigen and development of its polyclonal antiserum [J]. Acta Agric Boreal Sin, 2010, 25(4): 97-101.

[12] 张连明, 黄小云, 张英明, 等. 西马特罗分子印迹荧光检测试纸条的研制[J]. 分析化学研究报告, 2016, 44(10): 1477-1481.

- ZHANG LM, HUANG XY, ZHANG YM, *et al.* Development of simatrof fluorescence strip for molecular imprinting detection [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, 44(10): 1477–1481.
- [13] 孙晓亮, 李雪莲, 曹旭敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定猪尿液中 30 种不同种类“瘦肉精”药物残留[J]. *分析化学*, 2017, 45(1): 124–132.
- SUN XL, LI XL, CAO XM, *et al.* An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for fast determination of 30 different species of lean meat agents residues in pig urine [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(1): 124–132.
- [14] 蔡英华, 薛毅, 张玥, 等. UPLC-MS/MS 法测定动物源性食品中 4 个四环素类药物和 10 个  $\beta$  受体激动剂类药物残留[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(7): 1223–1230.
- CAI YH, XUE Y, ZHANG Y, *et al.* Determination of 4 tetracyclines residues and 10  $\beta$ -agonist residues in animal-derived food by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(7): 1223–1230.
- [15] 中华人民共和国农业部第 193 号公告-4-2002 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单[S].
- Bulletin of ministry of agriculture of the People's Republic of China No 193-4-2002. The list of forbidden veterinary drugs and other compounds in foodstuff of animal origin [S].
- [16] MAMILYN JS, AHMED MD, DONALD WF. Simultaneous multiresidue determination of tetracyclines and fluoroquinolones in catfish muscle using high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 586(1/2): 269.
- [17] 李玉芳, 王彤, 赵小阳, 等. 高效液相色谱法测定饲料中西马特罗的研究[J]. *中国饲料*, 2003, (17): 26–27.
- LI YF, WANG T, ZHAO XY, *et al.* Determination of cimatro in feed by high performance liquid chromatography [J]. *China Feed*, 2003, (17): 26–27.
- [18] FESSER AC, DICKSON LC, MACNEIL JD, *et al.* Determination of beta-agonists in liver and retina by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J AOAC Int*, 2005, 88(1): 61–69.
- [19] MASTRIANNI KR, METAVARAYUTH K, BREWER WE, *et al.* Analysis of 10  $\beta$ -agonists in pork meat using automated dispersive pipette extraction and LC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1084: 64–68.
- [20] 刘建利, 杨俊兴, 曹琛福, 等. 液相色谱-串联质谱法测定家畜尿液中 6 种  $\beta$ -兴奋剂残留的不确定度评定[J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2017, (4): 19–23.
- LIU JL, YANG JX, CAO CF, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of 6  $\beta$ -stimulants in livestock urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Shanghai Anim Husb Vet*, 2017, (4): 19–23.
- [21] 李丹妮, 潘娟, 张婧, 等. 基于液相色谱-串联质谱法同时测定猪和鸡粪便中  $\beta$ -受体激动剂残留的研究[J]. *饲料研究*, 2017, (4): 25–31.
- LI DN, PAN J, ZHANG J, *et al.* Simultaneous determination of  $\beta$ -agonist residue in pig and chicken feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Feed Res*, 2017, (4): 25–31.
- [22] 贾涛, 刘辉. 液相色谱-串联质谱法同时检测饲料中 13 种  $\beta$ -受体激动剂[J]. *饲料研究*, 2014, 1(3): 55–57.
- JIA T, LIU H. Simultaneous determination of 13  $\beta$ -agonists in feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Feed Res*, 2014, 1(3): 55–57.
- [23] SUN L, ZHANG L, ZHU Y, *et al.* Simultaneous determination of nine beta-agonist residues in animal derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, 26(6): 709–713.
- [24] 刘迪, 韩莉, 黄坤, 等. 超高效液相色谱-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.
- LIU D, HAN L, HUANG K, *et al.* Simultaneous determination of traditional and new types of “lean meat powder” in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Mach*, 2019, 35(7): 87–93.
- [25] BOLIN Z, CAI LZ, JIANG Z, *et al.* Simultaneous stereoselective determination of seven  $\beta$ -agonists in pork meat samples by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2019, 150: 104082–104089.
- [26] 李康柏, 许均图, 陈润发, 等. UHPLC-MS/MS 测定动物源食品中 14 种  $\beta$ -受体激动剂[J]. *广东化工*, 2018, (14): 215–216.
- LI KB, XU JT, CHEN RF, *et al.* UHPLC-MS/MS determination of 14  $\beta$ -receptor agonists in animal foods [J]. *Guangdong Chem*, 2018, (14): 215–216.
- [27] 代立勤, 崔银仓. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 5 种  $\beta$ -受体激动剂残留[J]. *现代农业科技*, 2018, 723(13): 253–254.
- DAI LQ, CUI YC. Determination of residues of 5  $\beta$ -agonists in pork by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2018, 723(13): 253–254.
- [28] WU P, CHEN H, WANG Q, *et al.* Multi-residue analysis of 10 beta2-agonists in animal tissues using gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, 26(1): 39–42.
- [29] DUAN J, CHEN H, CHEN Y, *et al.* Simultaneous determination of cimaterol, clenbuterol and salbutamol in feeds by capillary zone electrophoresis [J]. *Chin J Chromatogr*, 2005, 23(3): 261–263.
- [30] 段建平, 陈红青, 陈颖, 等. 高效毛细管电泳法同时测定西马特罗、盐酸克伦特罗、沙丁胺醇[J]. *广西师范大学学报*, 2003, 1(21): 250–251.
- DUAN JP, CHEN HQ, CHEN Y, *et al.* Simateo, clenbuterol and albuterol were determined by high performance capillary electrophoresis [J]. *J Guangxi Norm Univ*, 2003, 1(21): 250–251.
- [31] 崔廷婷, 冯才伟, 吴小胜, 等. 金刚烷胺残留化学发光酶免疫法的建立[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(14): 275–279.
- CUI TT, FENG CW, WU XS, *et al.* Establishment of chemiluminescent enzyme immunoassay for determination of amantadine residues [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(14): 275–279.
- [32] 张静, 张改平, 职爱民, 等. 沙丁胺醇 ELISA 方法的建立及应用[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(6): 195–199.
- ZHANG J, ZHANG GP, ZHI AM, *et al.* Development and application of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detecting salbutamol [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2014, 14(6): 195–199.
- [33] 刘宣兵, 张改平, 王斌, 等. 磺胺甲噁唑残留检测阻断 ELISA 试剂盒的研制[J]. *华北农学报*, 2009, 24(2): 214–217.
- LIU XB, ZHANG GP, WANG B, *et al.* Development of rapid test blocking ELISA kit for sulfamethoxazole residues [J]. *Acta Agric Boreal Sin*, 2009, 24(2): 214–217.
- [34] 张改平, 职爱民, 邓瑞广, 等. 兽药残留的免疫学快速检测技术概述[J]. *河南农业科学*, 2009, (9): 193–196.
- ZHANG GP, ZHI AM, DENG RG, *et al.* Overview of immunological

- rapid detection techniques for veterinary drug residues [J]. *J Henan Agric Sci*, 2009, (9): 193–196.
- [35] 王强, 王旭峰, 黄珂, 等. 酶联免疫吸附法测定水产品中甲基睾酮残留[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(5): 303–308.
- WANG Q, WANG XF, HUANG K, *et al.* Determination of methyltestosterone residue in aquatic products by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2015, 31(5): 303–308.
- [36] 李瑞婷, 陆建超, 王弘, 等. 直接竞争酶联免疫吸附法用于糖浆类保健食品中西地那非检测的研究[J]. *食品工业科技*, 2014, (24): 84–88, 95.
- LI RT, LU JC, WANG H, *et al.* Development of direct competitive enzyme-linked immunoassay for sildenafil analysis in health foods [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, (24): 84–88, 95.
- [37] SONG Y, WANG YY, ZHANG Y, *et al.* Development of enzymelinked immunosorbent assay for rapid determination of sildenafil in adulterated functional foods [J]. *Food Agric Immun*, 2012, 23(4): 338–351.
- [38] 周群标, 桑亚新, 王丽, 等. 动物性食品中盐酸克伦特罗 ELISA 检测方法的建立及应用[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(6): 159–162.
- ZHOU QB, SANG YX, WANG L, *et al.* Establishment and application of ELISA method for detection of clenbuterol hydrochloride in animal foods [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, 11(6): 159–162.
- [39] CHEN JH, WANG LT, LU LL, *et al.* Four specific hapten conformations dominating antibody specificity: Quantitative structure-activity relationship analysis for quinolone immunoassay [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(12): 6740–6748.
- [40] 许晶晶, 王兰腾, 赖玉健, 等. 除草剂异丙甲草胺特异性抗体制备及免疫检测方法的建立[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(10): 246–252.
- XU JJ, WANG LT, LAI YJ, *et al.* An immunoassay based on the antibody specific for herbicide metolachlor [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2019, 35(10): 246–252.
- [41] 任海涛, 沈玉栋, 徐振林, 等. 呋喃唑酮代谢物单克隆抗体制备及酶联免疫吸附分析方法[J]. *分析化学研究报告*, 2012, 40(5): 745–751.
- REN HT, SHEN YD, XU ZL, *et al.* Production and identification of monoclonal antibody against furazolidone metabolites and development of enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Chin J Anal Chem*, 2012, 40(5): 745–751.
- [42] LEE WY, LEE EK, KIM YJ, *et al.* Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of the organophosphorus insecticide isofenphos [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 557(1): 169–178.
- [43] 许小炫, 苏晓娜, 谭庶, 等. 间接竞争化学发光酶联免疫分析方法检测禽肉中金刚烷胺和氯霉素残留[J]. *食品科学*, 2021, 42(4): 305–312.
- XU XX, SU XN, TAN S, *et al.* Determination of amantadine and chloramphenicol residues in poultry meat by indirect competitive chemiluminescence enzyme-linked immunoassay [J]. *Food Sci*, 2021, 42(4): 305–312.
- [44] YOON YK, WOAN TN, KAREN O, *et al.* Development of an enzyme linked immunosorbent assay for fast screening of cimaterol residues in various matrices [J]. *Asian Pacific J Trop Dis*, 2014, 4(3): 244.

(责任编辑: 张晓寒)

## 作者简介



张燕, 质量工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1764602944@qq.com



杨金易, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: yjy361@163.com