

毛细管电泳测定猪肉中克伦特罗的含量

李春宇

(贵州省产品质量检验检测院 贵阳 550000)

摘要: 为了建立猪肉中克伦特罗的含量的测定方法,采用高效毛细管电泳法,运行缓冲液为 15 mmol/L 磷酸盐缓冲液(磷酸调 pH 为 6.5);运行电压 25 kV;柱温 25 °C;检测波长 200 nm。克伦特罗线性范围为 0.000 56~0.013 44 mg/mL ($r=0.999\ 8$),加样回收率为 99.83%,RSD 为 1.17%。高效毛细管电泳操作简便、准确,适用于猪肉中克伦特罗的含量的测定。

关键词: 高效毛细管电泳;猪肉;克伦特罗

中图分类号: Q592.1 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 550.99

Determination of clenbuterol in pork by capillary electrophoresis

Li Chunyu

(Guizhou Product Quality Inspection Research Institute, Guiyang 550000, China)

Abstract: To develop a method for the determination of clenbuterol in pork, high performance capillary electrophoresis method was used. The experimental condition is as follows: buffer solution: 15 mmol/L phosphate buffer (pH = 6.5); operating voltage: 25 kV; column temperature: 25 °C; detection wavelength: 200 nm. The linear range of clenbuterol is 0.000 56~0.013 44 mg/mL ($r=0.999\ 8$), the average recoveries is 99.83%, and RSD is 1.17%. The results showed that high performance capillary electrophoresis method is easy and accurate, which is a good way to determine the content of clenbuterol in pork.

1 引言

克伦特罗为强效选择性 β_2 -受体激动剂,添加到饲料中可促进动物生长,改善脂肪分配,增加瘦肉率,曾经被错误地引入并推广,俗称为“瘦肉精”^[1]。克伦特罗在人体的累计摄入量超过一定值或食用了高残留的内脏组织,易出现毒副作用^[2]。关于克伦特罗的检测方法主要有:酶免疫分析测试法^[3]、高效液相色谱法^[4]、气相色谱-质谱联用法^[5]、液相色谱-质谱联用法^[6]。本文采用毛细管电泳测定猪肉中克伦特罗的含量,为保障猪肉的质量与安全提供了一种新的快速、简便有效的检测方法。

2 材料与方法

HP^{3D} Capillary Electrophoresis System, 二极管阵列紫外检测器(DAD)(惠普公司);熔融石英毛细管(64.5 cm × 75 μ m)(河北永年光导纤维厂)。

甲醇为色谱纯;水为超纯水;盐酸克伦特罗对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110201-200907),对照品纯度均 $\geq 98\%$;其他试剂均为分析纯。

检测样品由贵州省产品质量检验检测院提供。

3 方法与结果

3.1 溶液的制备

3.1.1 对照品溶液的制备:精密称取盐酸克伦特罗,10 mmol/L 盐酸溶液溶解,0.45 μm 滤膜滤过,配置成浓度为 0.056 mol/mL 储备液,使用时配置成不同浓度的标准液。

3.1.2 供试品溶液:用匀浆机将猪肉匀浆 10 min(8 000 r/min),准确称取匀浆样约 5 g(精确到 0.01 g),置于 100 mL 锥形瓶中,准确加入 100 mL 的甲醇,超声波辅助提取 30 min,提取两次,合并提取液,浓缩,水浴蒸干,残渣用 2.0 mL 10 mmol/L 的盐酸溶液溶解后,用 0.45 μm 滤膜过滤,定容到 50 mL 供电泳测试。

3.2 电泳条件

运行缓冲液为 15 mmol/L 磷酸盐缓冲液(磷酸调 pH 为 6.3)。毛细管柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;恒定电压 25 kV;压力进样 0.8 psi \times 10 s;检测波长为 200 nm。毛细管使用前分别使用 1 mol/L NaOH 冲洗 3 min,重蒸水冲洗 3 min,再用运行缓冲液冲洗 5 min。样品溶液和运行缓冲液 0.45 μm 均用微孔滤膜过滤,超声脱气后使用。

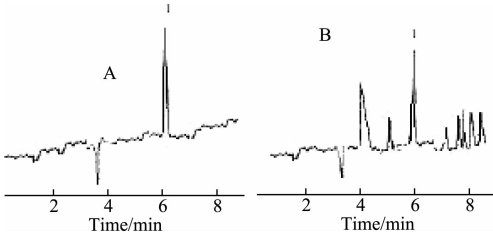


图1 毛细管电泳色谱图(A:对照品;B:供试品;)

Fig. 1 Capillary electrophoresis chromatogram
(A: reference substance; B: samples)

3.3 线性关系

精密吸取对照品储备液 0.5 mL、3 mL、6 mL、9 mL、12 mL 于 50 mL 锥形瓶中,用 2.0 mL 10 mmol/L 的盐酸定容,得不同浓度系列溶液,按照 3.2 测定条件检测。以浓度(X)为横坐标,对照品峰面积(Y)为纵坐标线性回归,得回归方程 $Y=0.357X+0.0143$, $r=0.9998$,线性范围:0.00056~0.01344 mg/mL。

3.4 稳定性试验

准确吸取供试品溶液,分别在 0 h、6 h、10 h、14 h、18 h、24 h 时依次测定,记录峰面积,计算克伦特罗的 RSD 值为 0.1%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液,连续进样 6 次,按照上述方法测定,测得峰面积。结果克伦特罗的 RSD 值为 0.98%,这表明仪器的精密度较好。

3.7 重现性试验

准确称取同一批样品 6 份,每份 2.5 g,按照 3.1.2 方法分别制备样品供试液并测定。结果克伦特罗平均含量为 0.013 mg/g, RSD 为 1.17%,结果表明实验重复性良好。

3.8 加样回收率试验

取已知含量样品(0.013 mg/g)6 份,每份 0.5 g,精确加入对照品适量。按 3.1.2 供试品溶液制备方法制备,按照 3.2 电泳条件测定,计算回收率,结果显示平均加样回收率 99.83%, RSD 为 1.17%。

3.9 样品测定

准确称取 3 份不同样品各约 2.5 g,按照 3.1.2 方法制备供试品溶液,按照上述色谱条件测定,计算克伦特罗含量,结果除样品一的含量为 1.37×10^{-3} g 外,其余两个样品均不含有克伦特罗。

4 讨论

4.1 工作电压的影响

本研究设置不同电压,考察比较实验考察了 15~25 kV 范围内的电压的影响。实验显示,分离电压电压较低,克伦特罗分离分析时间较长;电压升高,盐酸克伦特罗分析时间缩短,且峰形拖尾。综合考虑分离度和灵敏度等多方面因素,选择 25 kV 为最佳工作电压。

4.2 缓冲液的优化

本实验选择不同缓冲液、浓度及 pH,研究操作参数对分离的影响。结果发现以 15 mmol/L 磷酸盐缓冲液(磷酸调 pH 为 6.5)分离最好,样

品成份能在较短的时间内达到基线。

4.3 缓冲溶液浓度的影响

实验考察比较了不同浓度的磷酸盐缓冲液浓度,结果表明伴随磷酸盐缓冲液浓度增加,克伦特罗分离度加大,但峰比较尖锐。为了减小溶质与管壁的相互作用,克服畸形峰变,最终选择缓冲溶液浓度为 15 mmol/L,出峰明显。

5 结 论

用高效毛细管电泳分离测定猪肉克伦特罗的含量,操作简便准确,消耗试剂少,具有不污染环境及测试费用低的优点,适用于猪肉中克伦特罗含量的测定,以便于为群众提供健康的食品。

参考文献

- [1] 苗虹,王仁武,吴永宁. 动物源性食品及生物材料中克伦特罗测定方法的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(5):441-445.
MIAO H, WANG R W, WU Y N. Progress on the determination of clenbuterol residue in foods from animal sources [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2003, 15(5):441-445.
- [2] 王海花,黄素珍. 浅谈盐酸克伦特罗的危害[J]. 肉类工业, 2003(5): 42-43.
WANG H H, HUANG S ZH. To discuss the harm of clenbuterol hydrochloride[J]. Meat Industry, 2003 (5): 42-43.

- [3] 李峰,金池国. 酶联免疫法在克伦特罗等在兴奋剂检测中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(2): 208.
LI F, JIN CH G. The application of detection of clenbuterol residue in doping control by ELISA[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2003, 13(2): 208.
- [4] LAWTEENCE J F, MENARD C. Determination of clenbuterol in beef liver and muscle tissue using immunoaffinity chromatographic cleanup and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection [J]. J Chromatogr B, 1997, 696: 291-297.
- [5] FENTE C A, Vázquez B I, FRANCO C, et al. Determination of clenbuterol residues in bovine hair by using diphasic dialysis and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 1999, 726:133-139.
- [6] GUY P A, SAVOY M C, STADLER R H. Quantitative analysis of clenbuterol in meat products using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 1999, 736: 209-219.

作者简介

李春宇(1977-),工程师,大学本科,研究方向:食品检测。

E-mail: lichunyu000@yeah.net

Li Chunyu, engineer, bachelor's degree, and his research direction is food detection.