

(203 nm) 较低,且紫外光谱图为末端吸收,对所用流动相的纯度要求很高,因此采用紫外检测法容易造成基线不稳,重复性较差,难以得到满意的结果。本法采用差示折射法检测大豆皂甙,结果峰面积值和进样量之间呈良好的线性关系,用于大豆皂甙的分析优于紫外检测法。本文建立的检测方法灵敏度、重现性均能满足一般分析要求,可用于大豆皂甙样品中 DDMP 皂甙的含量分析,也可用于其它大豆皂甙的分析,具有普遍意义。

#### 参考文献:

- [1] 王银萍,吴家祥,王心蕊,等. 大豆皂甙和人参茎叶皂甙的抗糖尿病动脉粥样硬化作用[J]. 白求恩医科大学学报,1994,20(6):551—554.
- [2] Yoshiki Y, Okubo K. Active oxygen scavenging activity of

DDMP (2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) saponin in soybean seed[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1995, 59(8):1556—1557.

- [3] Yoshikoshi M, Yoshiki Y, Okubo K, et al. Prevention of hydrogen peroxide damage by soybean saponins to mouse fibroblasts[J]. Planta Med, 1996, 62(3):252—255.
- [4] Kinjo J, Imagire M, Udayama M, et al. Structure-hepatoprotective relationships study of soyasaponins F IV having soyasapogenol B as aglycone[J]. Planta Med, 1998, 64(3):233—236.
- [5] 吉诚由美子,大久保一郎. 大豆サポニンの機能性[J]. 食品と开发,1999,34(7):8—11.
- [6] Kudou S, Tonomura M, Tsukamoto C, et al. Isolation and structural elucidation of the major genuine soybean saponin [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1992, 56(1):142—143.

[收稿日期:2003-01-06]

中图分类号:R15;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2004)01-0030-03

## 单扫描极谱法测定猪肉中克伦特罗残留量

汤晓勤<sup>1</sup> 向仕学<sup>1</sup> 龚志华<sup>2</sup> 何扬<sup>2</sup>

(1. 四川省卫生防疫站,四川 成都 610031; 2. 四川大学华西公共卫生学院,四川 成都 610041)

**摘要:**为研制一个适用于基层实验室测定猪肉中克伦特罗的极谱分析方法,将试样用75%乙醇和正己烷二种不同极性溶剂提取和纯化,用拟定的极谱分析方法进行定性和定量测定。在盐酸-高锰酸钾-草酸介质中,克伦特罗峰电位为-840 mV(vs. SCE)。克伦特罗浓度在0.5~4.0 μg/mL之间线性关系良好,相关系数 $r=0.9994$ ,回归方程 $y=9.563x-32.15$ 。最低检出量为1.2 μg。平均相对标准偏差(RSD)为7.7%( $n=7$ ),加标平均回收率为85.2%。该法准确、快速、简便、仪器价廉,适于基层实验室检测猪肉中克伦特罗残留量。

**关键词:**极谱法;猪;克伦特罗

### Determination of clenbuterol residues in pork by the single-sweep polarography

Tang Xiaoqin, et al.

(Health and Anti-epidemic Station of Sichuan Province, Sichuan Chengdu 610031, China)

**Abstract:** A method using single-sweep polarography for determining the clenbuterol residues in pork was established for middle and small sized laboratories. Clenbuterol in samples were extracted and purified with 75% alcohol and *n*-Hexane and then determined qualitatively and quantitatively by polarography. Peak potential of clenbuterol was found at -840 mV(vs. SCE) in the mediums of HCl-KMnO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. The linear relation was well to the standard contents of clenbuterol within the range of 0.5~4.0 μg/mL. The coefficient of correlation was  $r=0.9994$  ( $n=7$ ), regression equation was  $y=9.563x-32.15$ . The detectability of the method was 1.2 μg. Its relative standard deviation (RSD) was 7.7% ( $n=7$ ) and average recovery was 85.2% ( $n=5$ ). The method is accurate, rapid and simple, and the instrument is cheap. It is fit for middle and small sized laboratories to determine clenbuterol residues in pork.

作者简介:汤晓勤 女 副主任技师

**Key Words:** Bolarography; Swine; Clenbuterol

盐酸克伦特罗 (Clenbuterol Hydrochloride) 是一种人工合成的  $\beta_2$ -肾上腺素受体激动药。临床用于防治支气管哮喘和支气管痉挛。别名克喘素、氨哮素, 化学名称: - [(叔丁胺基) 甲基] - 4-氨基 - 3, 5-二氯苯甲醇盐酸盐。在体内代谢慢, 半衰期长。人食用残留较高的猪肉会出现面色潮红、心悸、心动过速、肌肉震颤、神经过敏、乏力等中毒症状。<sup>[1]</sup>

在我国已明令禁止在饲料和畜牧生产中将盐酸克伦特罗作为饲料添加剂使用, 但仍有一些饲料者在非法使用盐酸克伦特罗。

克伦特罗的检测方法, 国外主要采用酶联免疫吸附法 (ELISA 法) 进行筛选, 阳性样品用气-质联用 (GC/MS) 分析法进行确证。<sup>[2]</sup> 国内, 卫生部门推荐的方法是用高效液相色谱法 (HPLC 法) 或 ELISA 法进行筛选, 用 GC/MS 法进行确证。<sup>[3]</sup> 因所需仪器昂贵, 不易普及, 成本较高, 样品处理繁琐, 检测周期长, 不适于基层单位采用。为遏止不法行为, 保护公众健康, 亟待研制一个适于基层实验室使用的检测方法。现将本文作者研制的方法——单扫描极谱法测定猪肉中克伦特罗残留量报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

PS4.0 型微机极谱仪 中国疾控中心营养与食品安全所中卫公司; 恒温水浴箱; 调速振荡器。

正己烷, 75% 乙醇溶液, 10% 亚铁氰化钾溶液, 40% 氢氧化钠溶液, 0.1 mol/L、0.01 mol/L 盐酸溶液, 0.1% 高锰酸钾溶液, 0.25 mol/L 草酸溶液; 20% 乙酸锌溶液: 称取 20 g 乙酸锌加 3 mL 冰乙酸, 加水溶解定容至 100 mL; 盐酸克伦特罗标准溶液: 准确称取盐酸克伦特罗标准品 0.0100 g, 用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解并定容至 10.0 mL。此标准储备溶液的浓度为 1.0 mg/mL, 临用时, 将克伦特罗标准储备液用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释成 50  $\mu$ g/mL 的标准使用溶液。

以上试剂均为分析纯, 实验用水为重蒸馏水。

### 1.2 方法

1.2.1 校正曲线绘制 取 10 mL 比色管 6 支, 分别加入盐酸克伦特罗标准使用溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mL (相当于含 0、5、10、20、30、40  $\mu$ g 盐酸克伦特罗)。再依次加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 2.0 mL 和 0.1% 高锰酸钾溶液 1.5 mL, 混匀, 30 s 后向各管加入 0.25 mol/L 草酸溶液 1.0 mL, 混匀, 待紫色褪去后再加水至 10.0 mL。放置 10 min, 依次移入电解

池并置三电极系统。

选择初始电位 - 600 mV, 终止电位 - 1 000 mV, 二次导数, 于峰电位 ( $E_p$ ) - 840 mV 处 (vs. SCE) 测量克伦特罗标准系列峰电流 ( $I_p$ )。以峰电流为纵坐标, 盐酸克伦特罗的含量为横坐标绘制校正曲线。克伦特罗标准极谱波峰见图 1。

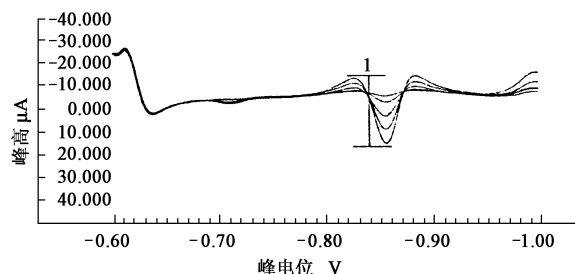


图 1 克伦特罗标准极谱波峰

### 1.2.2 试样测定

提取 称取切碎、制成肉糜的猪肉试样 10.0 g, 置 150 mL 锥形瓶中, 加入 75% 乙醇溶液 20 mL, 滴加 1+3 的盐酸溶液使成微酸性 (pH 值约为 3), 置振荡器振荡提取 15 min, 静置后, 将上清液移入 100 mL 容量瓶中。重复提取 1 次, 合并上层液。再提取 1 次, 过滤, 滤液合并于容量瓶中。

沉淀 向上述容量瓶中加入 5.0 mL 20% 乙酸锌溶液和 5.0 mL 10% 亚铁氰化钾溶液, 再加水至刻度, 振摇, 静置 30 min 后过滤。吸取滤液 50.0 mL 于玻璃蒸发皿中, 置恒温水浴箱, 80  $^{\circ}$ C, 水浴挥去乙醇。

净化 将蒸发后剩余溶液全部转入 50 mL 容量瓶中, 用 40% 氢氧化钠溶液调节 pH 约为 11, 加水至刻度。摇匀, 过滤并吸取滤液 25.0 mL 于 100 mL 分液漏斗中, 加入正己烷 20 mL 振摇提取, 静置分层后将有机相收集于蒸发皿中。再重复提取两次并合并有机相, 于 60  $^{\circ}$ C 水浴挥干。

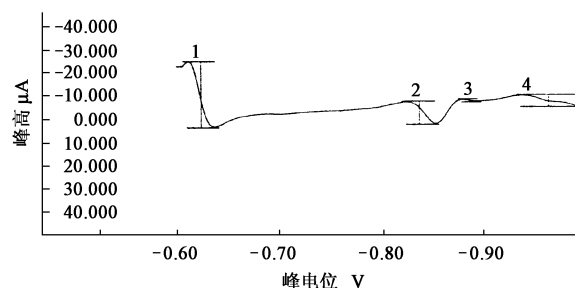


图 2 猪肉样品中添加克伦特罗极谱波峰

测定 用 0.01 mol/L 盐酸溶液 2.0 mL, 分 2 次溶解残渣, 移入 10 mL 比色管中。余同 2.2.1 校正

曲线绘制项下操作,测定试样的峰电流,用校正曲线法计算试样中盐酸克伦特罗的含量。猪肉试样中添加克伦特罗极谱波峰见图2。

## 2 结果与讨论

2.1 介质及其条件的选择 固定盐酸克伦特罗的浓度为 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,选用NaCl-盐酸体系(pH 1左右、pH 3左右)、饱和硼砂溶液(pH 9左右)、乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH 3.25、pH 5.08)、氨-氯化铵缓冲液(pH 8.4)、氯化钠-氢氧化钠体系(pH 9~10)、磷酸盐缓冲液(pH 8.2)、草酸-氢氧化钠体系(pH 2.4、pH 3~4、pH 9~10)、Britton-Robinson缓冲液(pH 1.81、2.21、3.29、4.78、5.02、7.00、8.36、9.37)、草酸铵-氯化钠体系(pH 2左右)、草酸铵-乙酸钠-乙酸缓冲体系(pH 4左右)均无极谱波峰。当选用草酸-氢氧化钠缓冲体系(pH 4.8)时,盐酸克伦特罗出现极谱峰且在其极谱峰邻近电位上有一较大背景峰,互为影响。当采用盐酸-高锰酸钾-草酸介质时,克伦特罗在 $-840\text{mV}$ 出现一个峰形尖锐、狭窄、稳定而对称的极谱波峰,而且在临近电位无其它极谱波峰。

固定盐酸克伦特罗浓度为 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对已选定的介质按单因素变量法,逐一进行优选:分别吸取 $0.1\text{mol/L}$ 的盐酸溶液 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0\text{mL}$ 进行实验,结果表明低浓度时,基线不稳定且有干扰峰出现,盐酸用量增加到 $2.0\text{mL}$ 时,基线趋于稳定且干扰峰减少。分别吸取 $0.1\%$ 的高锰酸钾溶液 $0.25$ 、 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $1.5\text{mL}$ 进行实验,结果表明低浓度时峰电流不稳定,随高锰酸钾量增加到 $1.0\text{mL}$ ,峰电流值趋于稳定;分别吸取 $0.25\text{mol/L}$ 的草酸溶液 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0\text{mL}$ 进行实验,结果表明随草酸用量增加,峰电流值变小,但背景峰右移远离测定峰电位。综上,本法选用 $0.1\text{mol/L}$ 盐酸 $2.0\text{mL}$ , $0.1\%$   $\text{KMnO}_4$   $1.5\text{mL}$ , $0.25\text{mol/L}$ 的草酸 $1.0\text{mL}$ 为最佳条件。

固定盐酸克伦特罗浓度为 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,加入盐酸和高锰酸钾后,选择沸水浴、 $60^\circ\text{C}$ 水浴、室温、冰水浴,放置时间选择 $30\text{s}$ 和 $5$ 、 $10$ 、 $15\text{min}$ ,峰电流随温度的降低、时间的减少而有所增加,本法选用室温放置 $30\text{s}$ 为最佳条件。

2.2 盐酸克伦特罗与峰电流的关系 在不同时间,绘制了7条校正曲线。盐酸克伦特罗标准溶液浓度在 $0.5\sim 4\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好, $r=0.9994$ ,回归方程为 $y=9.563x-32.15$ 。

2.3 方法的最低检出限 因试剂空白管无极谱峰,每毫升底液中添加 $0.25\mu\text{g}$ 的克伦特罗标准溶液,按本法于不同时间重复测定21次,峰电流平均值为 $13.92$ ,标准差( $s_b$ )为 $3.753$ ,按1984年IUPAC规定 $LOD=3s_b/b$ 计算。本法最低检出限为 $1.2\mu\text{g}$ 。

2.4 峰电流稳定性实验 配制不同浓度的克伦特罗标准溶液,室温放置,间隔一定的时间进行重复测定。实验结果表明,24h内各浓度的克伦特罗峰电流基本不变。

2.5 干扰实验 实验结果表明测定 $10\mu\text{g}$ 盐酸克伦特罗时, $200$ 倍的 $\text{Ca}^{2+}$ , $100$ 倍的 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ , $50$ 倍的 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ , $20$ 倍的金霉素, $10$ 倍的土霉素, $5$ 倍的四环素不干扰测定。

2.6 精密度实验 在不同时间对 $40$ 、 $20$ 、 $10$ 3个浓度的盐酸克伦特罗标准溶液及阴性猪肉加标试样进行7次重复测定,相对标准偏差在 $6.6\%\sim 8.8\%$ 、 $7.4\%\sim 9.2\%$ 之间。

2.7 加标回收实验 于不同时间在 $10\text{g}$ 试样中,加入 $30$ 、 $10\mu\text{g}$ 2个水平的盐酸克伦特罗标准品进行5次回收实验,其回收率在 $77.5\%\sim 91.8\%$ 之间。

3 小结 本文建立了单扫描极谱法测定猪肉中盐酸克伦特罗残留量的方法,并获得了较满意的结果。测定的线性范围在 $0.5\sim 4\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,方法检出限为 $1.2\mu\text{g}$ ,相对标准偏差为 $6.6\%\sim 9.2\%$ ,加标回收率在 $77.5\%\sim 91.8\%$ 之间。本法简便、快速、仪器试剂普及,利于推广利用。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会,主编.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,2000,605-606.
- [2] 陈茹,吴时清,林志雄,等.克伦特罗及其检测技术[J].动植物检疫,1999,29(2):29-32.
- [3] 郑举,刘江云.饲料中盐酸克伦特罗的高效液相色谱法测定[J].兽药与饲料添加剂,1999,4(6):10-11.
- [4] GB 16869-2000.鲜冻禽产品[S].

[收稿日期:2003-02-10]

中图分类号:R15;R971.93 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2004)01-0032-03