

# 固相萃取-高效液相色谱法测定动物尿样中的莱克多巴胺

应永飞<sup>1</sup>, 皮雄娥<sup>2</sup>, 陈慧华<sup>1</sup>, 朱聪英<sup>1</sup>

(1. 浙江省畜产品质量安全检测中心, 浙江 杭州 310020; 2. 浙江省农业科学院植物保护与微生物所, 浙江 杭州 310021)

关键词: 高效液相色谱法(HPLC); 固相萃取(solid-phase extraction); 莱克多巴胺(ractopamine); 残留量(residue); 动物尿样(animal urine)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2006)03-0320-01 栏目类别: 技术与应用

莱克多巴胺(ractopamine)是一种新型的 $\beta$ -肾上腺素兴奋剂,我国农业部、卫生部、国家食品药品监督管理局在2002年联合下发的176号公告中已经明确将其列入禁用药品名单。目前,文献报道的莱克多巴胺的检测方法很少<sup>[1-3]</sup>,特别是国内还未见文献报道。由于莱克多巴胺在动物体内代谢较快,因而药物往往以原形的形式从体内排出。检测动物尿样具有快速、准确等特点,建立动物尿样中的莱克多巴胺的检测方法可以对畜产品生产过程中使用莱克多巴胺的现象进行有效的监控。因此,探索动物尿样中莱克多巴胺的检测方法具有重要的理论意义和实际价值。本文建立了动物尿样中莱克多巴胺残留量的高效液相色谱(HPLC)测定方法,样品处理简单,灵敏度高。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪(配荧光检测器); Waters 公司 20 孔固相萃取装置; 硅藻土和硅胶柱(SLH)固相萃取柱(500 mg/5 mL, 杭州富裕科技服务有限公司)。莱克多巴胺对照品(浙江省兽药监察所提供); 乙腈为色谱纯; 戊烷磺酸钠为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 实验用水为 Milli-Q 超纯水。

标准储备液的配制: 精密称取 25 mg 莱克多巴胺对照品, 置于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度。

### 1.2 色谱条件

色谱柱: Waters Symmetry C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm i. d. × 250 mm 5  $\mu$ m); 流动相: 戊烷磺酸钠溶液(取 800 mL 水, 加 20 mL 冰醋酸和 0.87 g 戊烷磺酸钠)-乙腈(体积比为 80:20); 流速 1 mL/min, 进样量 50  $\mu$ L。激发波长为 226 nm, 发射波长为 306 nm。

### 1.3 样品处理方法

精密量取动物尿样 10.00 mL 至 50 mL 离心管中, 加 10 mL 叔丁基甲醚提取, 涡旋混合 2 min, 于 7 000 r/min 速率离心 5 min, 取上清液过无水硫酸钠, 流出液收集于鸡心瓶中; 残余物用 10 mL 叔丁基甲醚重复提取 1 次, 并用 2 mL 叔丁基甲醚洗涤无水硫酸钠。合并提取液, 旋转蒸干。用 2 mL 乙酸乙酯溶解鸡心瓶中的残余物, 过 SLH 固相萃取柱(先经 5 mL 甲醇和 5 mL 乙酸乙酯冲洗); 另取 3 mL 3% 甲醇-乙酸乙酯洗涤鸡心瓶中的残余物 1 次, 过柱; 再用 5 mL 50% 甲醇-乙酸乙酯洗脱, 洗脱液用氮气吹干后, 用 2% 乙酸溶液溶解并定容至 1 mL, 过 0.45  $\mu$ m 滤膜后进样分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 固相萃取条件的确定

选用 2 mL 乙酸乙酯溶解鸡心瓶中的残余物, 过 SLH 固相萃取柱。用 3% 甲醇-乙酸乙酯溶液淋洗 SLH 柱, 当淋洗

液为 3 mL 时目标物的回收率较高, 而且杂质干扰较少。然后用 50% 甲醇-乙酸乙酯溶液洗脱, 当洗脱液用量为 5 mL 时, 可以将吸附在柱上的莱克多巴胺完全洗脱。故理想的淋洗液为 3% 甲醇-乙酸乙酯溶液, 用量为 3 mL; 洗脱液为 50% 甲醇-乙酸乙酯溶液, 用量为 5 mL。

### 2.2 标准曲线与检出限

分别吸取一定量的标准储备液, 用 2% 乙酸溶液稀释、定容, 配制成质量浓度为 20, 40, 100, 200, 500  $\mu$ g/L 的对照溶液, 分别进行 HPLC 测定。将峰面积  $y$  对对照溶液的质量浓度  $x$  ( $\mu$ g/L) 作线性回归, 得到的线性方程为  $y = 10\,080\,548x + 6\,438$ ,  $r = 0.999\,9$ , 表明在 20 ~ 500  $\mu$ g/L 范围内其线性关系良好。检测限以信噪比( $S/N$ )为 3 时对应的目标物浓度确定, 得方法的检出限为 10  $\mu$ g/L。

### 2.3 精密度和准确度试验

按“1.3”的方法对添加了 10, 20 和 50  $\mu$ g/L 莱克多巴胺的尿样进行重复试验。每个浓度取 5 份平行样品, 根据测定结果计算回收率和相对标准偏差。结果表明, 动物尿样中莱克多巴胺的回收率比较稳定, 平均回收率在 84.2% 以上, 相对标准偏差  $\leq 6.4\%$ 。图 1 为对照溶液、空白样品和空白加标样品的 HPLC 谱图。

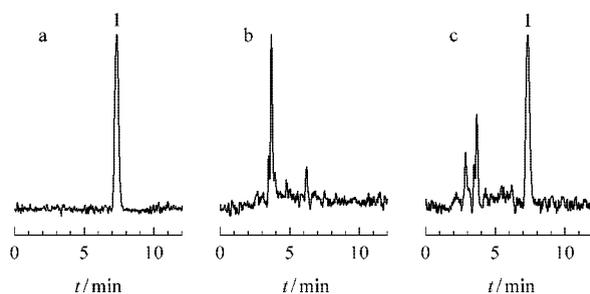


图 1 (a)对照溶液、(b)空白样品和(c)空白加标样品的色谱图  
1. 莱克多巴胺。

### 2.4 样品分析

应用建立的方法对 19 份随机样品进行测定, 其中 1 份样品被检测出含有莱克多巴胺, 其质量浓度为 12.9  $\mu$ g/L。该检测结果表明, 本方法完全能满足我国对动物尿样中莱克多巴胺进行监控的需要。

### 参考文献:

- [1] Shishani E (I), Chai S C, Jamokha S, Aznar G, Heffman M K. Anal Chim Acta, 2003, 483: 137
- [2] Antignac J P, Marchand P, Bizet B L, Andre F. J Chromatogr B, 2002, 774: 59
- [3] Turberg M P, Rodewald J M, Coleman M R. J Chromatogr B, 1996, 675: 279