

兽药中非法添加四环素类药物的检查方法

1 适用范围

1.1 本方法适用于麻杏石甘散、银翘散、替米考星预混剂、氟苯尼考预混剂、磺胺氯吡嗪钠可溶性粉中非法添加土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素的检查。

1.2 用于其他兽药制剂中非法添加土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素等四环素类药物检查时，需进行空白试验和检测限测定。

2 检查方法

照高效液相色谱法（《中国兽药典》一部附录 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以 0.01mol/L 草酸溶液为流动相 A，乙腈为流动相 B，按下表梯度洗脱；二极管阵列检测器检测，采集波长范围为 200~400nm，分辨率为 1.2nm；记录 350nm 波长处的色谱图。取土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素及多西环素对照品适量，用 0.01mol/L 盐酸溶液溶解并稀释制成每 1ml 中各约含 10 μ g 的溶液，作为系统适用性溶液，取 20 μ L 注入液相色谱仪，同时记录光谱图和色谱图，出峰顺序依次为土霉素、四环素、金霉素、多西环素，相邻峰之间的分离度均应符合要求。供试品溶液中如有土霉素、四环素、金霉素或多西环素峰，与相邻峰的分离度应符合要求。

时间 (min)	A%	B%
0	90	10
3	90	10
15	70	30
20	70	30
22	90	10

测定法 取供试品 1.0g，置锥形瓶中，加 0.01mol/L 的盐酸溶液 100 ml，超声处理 5 分钟，摇匀，滤过，取滤液 5.0ml，加 0.01mol/L 盐酸溶液稀释至 25ml，摇匀，作为供试品溶液。另取土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素对照品适量，用 0.01mol/L 的盐酸溶液溶解并稀释制成每 1ml 中各约含 10 μ g 的溶液，作为对照品溶液。取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ L 注入液相色谱仪，同时记录色谱图和光谱图。必要时，可调整供试品溶液或对照品溶液的浓度，使两者峰面积近似。通过与对照品溶液色谱图保留时间、光谱图的比对，确定供试品中是否含有土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素。

3 结果判定

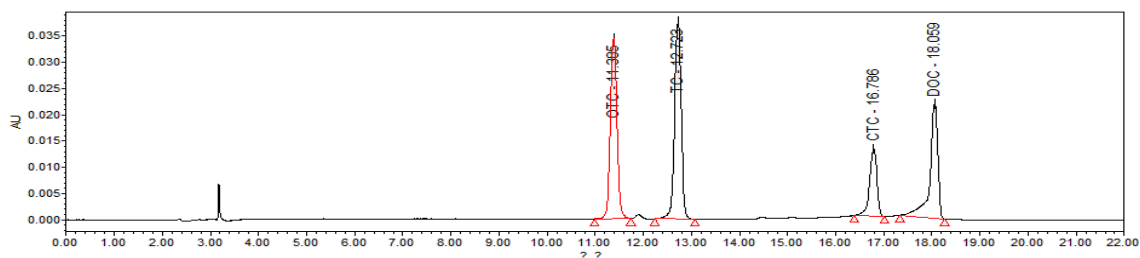
3.1 供试品溶液色谱图中如出现与土霉素、四环素、金霉素或多西环素对照品保留时间一致的峰（差异小于等于 $\pm 5\%$ ），且为单一物质峰；在规定的采集波长范围内，两者紫外光谱图匹配，且最大吸收波长一致（差异小于等于 $\pm 2\text{nm}$ ），判定为检出土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素。

3.2 供试品溶液色谱图中峰保留时间与土霉素、四环素、金霉素或多西环素对照品峰一致，但峰面积小于检测限峰面积，判定为未检出土霉素、盐酸四环素、盐酸金霉素或多西环素。

4 检测限

本方法检测限土霉素、盐酸四环素为 0.5g/kg，盐酸金霉素、多西环素为 1.0g/kg。

附图 1：四环素类药物混合标准溶液色谱图



注：出峰顺序依次为：土霉素、四环素、金霉素、多西环素

附图 2：四环素类药物混合标准溶液光谱图

