

兽药固体制剂中 非法添加酰胺醇类药物的检查方法

1 适用范围

1.1 本方法适用于兽药固体制剂（健胃散、止痢散、球虫散、胃肠活、阿莫西林可溶性粉、氨苄西林可溶性粉、硫酸新霉素可溶性粉、盐酸大观霉素林可霉素可溶性粉、盐酸土霉素预混剂、注射用盐酸土霉素、盐酸金霉素可溶性粉、盐酸多西环素可溶性粉、酒石酸泰乐菌素可溶性粉、硫酸红霉素可溶性粉、替米考星预混剂、盐酸林可霉素可溶性粉、硫酸粘菌素可溶性粉、恩诺沙星可溶性粉、盐酸环丙沙星可溶性粉、氧氟沙星可溶性粉、盐酸环丙沙星小檗碱预混剂、阿苯达唑伊维菌素预混剂、阿维菌素粉、地克珠利预混剂、维生素 C 可溶性粉、复方维生素 B 可溶性粉）中非法添加的酰胺醇类药物（甲矾霉素、氟苯尼考、氯霉素）的检查。

1.2 用于其它兽药固体制剂药物中非法添加酰胺醇类药物（甲矾霉素、氟苯尼考、氯霉素）检查时，需要进行空白试验和系统适用性试验，供试品溶液中甲矾霉素、氟苯尼考和氯霉素色谱峰与相邻的色谱峰分离度应符合要求。必要时可采用二极管阵列检测器进行峰纯度检测。

2、检查方法 照高效液相色谱法（《中国兽药典》2015 版一部附录 0512）。

色谱条件与系统适用性 用十八烷基键合硅胶为填充剂（Waters Atlantis T3 4.6mm ×250mm, 5 μ m,或其他等效的色谱柱）；以甲醇为流动相 A，以乙腈为流动相 B，水为流动相 C，流速为 1ml/min，按下表进行洗脱；二极管阵列检测器检测，采集波长范围为 190nm~400nm，分辨率为 1.2nm，分别记录 224nm 和 278nm 波长处的色谱图。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）	流动相 C（%）
0	13	12	75
12	13	12	75
26	0	40	60
30	13	12	75
35	13	12	75

分别取甲矾霉素、氟苯尼考、氯霉素对照品适量，加 40% 甲醇溶液超声使溶解，制成每

1ml 中各含约 50 μ g 的溶液，作为系统适用性溶液。取 10 μ l 注入高效液相色谱仪，记录色谱图和光谱图。甲砒霉素、氟苯尼考和氯霉素之间的分离度应符合要求。

测定法 取供试品约 0.5g，精密加入 40%的甲醇溶液 50ml，超声 15 分钟，摇匀，6000 转/分钟，离心 5 分钟；取上清液 1.0ml 置 10ml 量瓶中，加 40%甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。分别取甲砒霉素、氟苯尼考、氯霉素对照品适量，加 40%甲醇溶液超声使溶解，制成每 1ml 中各含约 50 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 10 μ l，分别注入高效液相色谱仪，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、光谱图的对比，确定供试品中是否含有甲砒霉素、氟苯尼考和氯霉素。

3 结果判定

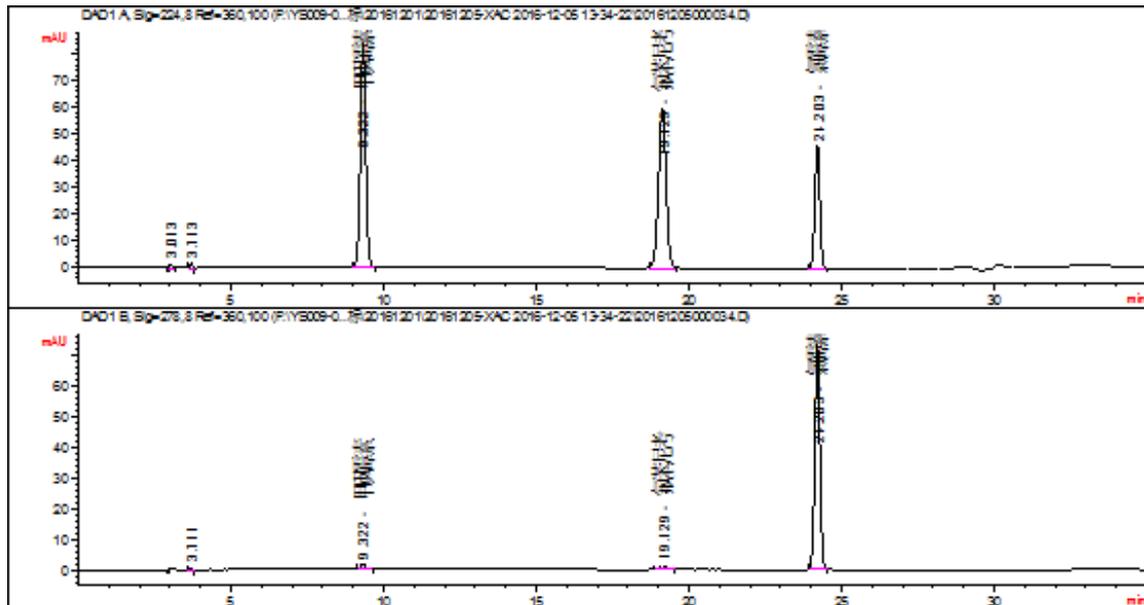
3.1 供试品色谱图中如出现与相应对照品保留时间一致的峰（差异小于等于 $\pm 5\%$ ），且为单一物质峰；在规定的采集波长范围内，两者紫外光谱图匹配，且最大吸收波长一致（差异小于等于 $\pm 2\text{nm}$ ），判定为检出为甲砒霉素、氟苯尼考或氯霉素。

3.2 供试品溶液色谱图中峰保留时间与相应对照品峰相同，但峰面积小于检测限峰面积，判定为未检出甲砒霉素、氟苯尼考或氯霉素。

4 检测限

本方法甲砒霉素、氟苯尼考、氯霉素检测限为 4g/kg。

附图 1： 酰胺醇类药物混合标准溶液 224nm 和 278nm 色谱图



注：1、上图为 224nm 色谱图，下图为 278nm 色谱图；
2、出峰顺序为甲砒霉素、氟苯尼考、氯霉素

附图 2: 酰胺醇类药物混合标准溶液光谱图

