

# 薄层色谱和液相色谱法鉴别中兽药散剂中 掺加的磺胺喹噁啉钠

高迎春,苏梅,魏秀丽,王燕,张志民

(山东省兽药质量检验所,济南 250022)

[收稿日期] 2009 - 10 - 28 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2010) 02 - 0023 - 03 [中图分类号] S857. 7

[摘要] 对磺胺喹噁啉钠采用硅胶 GF<sub>254</sub>板为固定相,以正丁醇 - 浓氨水 (15 : 3)为展开剂,用薄层色谱鉴别中兽药散剂中磺胺喹噁啉钠分离较好,斑点显色清晰且无干扰,可用于中药散剂中非法添加物磺胺喹噁啉钠的快速筛选。采用 C<sub>18</sub>柱为固定相,以甲醇 - 乙腈 - 水 - 冰乙酸 (2 : 2 : 9 : 0. 2)为流动相,紫外检测波长为 270 nm。液相色谱鉴别中药散剂中非法添加磺胺喹噁啉钠分离良好,无干扰峰,可用于中兽药散剂中非法添加物磺胺喹噁啉钠的鉴别。

[关键词] 薄层色谱法;液相色谱法;磺胺喹噁啉钠

## Identification of Sulfaquinoxline Sodium Adding to Herb Veterinary Drug Compound Preparation by TLC and HPLC

GAO Ying - chun, SU MEI, WEI Xiu - li, WANG YAN, ZHANG Zhi - min

(Shandong Provincial Veterinary Medicine Supervision Institute, jinan, 250022)

**Abstract:** TLC and HPLC method were established for the determination of sulfaquinoxline sodium in herb veterinary drug compound preparation. TLC condition: Drug was separated on silica gel thin layer chromatography plate; developing agent was *n* - butanol/stronger ammonia water (15 : 3). HPLC conditions: the chromatography column was C<sub>18</sub> column of 150 mm × 4. 6 mm, 5 μm; mobile phase was methanol - acetonitrile - water - acetic acid (2 : 2 : 9 : 0. 2, V/V); Determination was by UV detection at 270 nm. This method identifying sulfaquinoxline sodium adding to herb veterinary drug compound preparation is successfully feasible.

**Key words:** TLC; HPLC; sulfaquinoxline sodium

目前,某些不法兽药生产企业为了增强中药的治疗效果,常在中兽药散剂中非法添加抗菌药物,造成畜禽机体中毒,畜禽产品中的兽药残留超标,严重影响食品安全和公共卫生。这些散剂大多数是治疗肠道感染的中药散剂。本试验针对《中国兽药典》中常用的治疗肠道菌感染的处方进行了非法添加磺胺喹噁啉钠薄层色谱快速筛选方法和液相

色谱方法的研究。处方包括:止痢散、四黄止痢颗粒、黄连解毒散、清瘟败毒散、白头翁散、鸡球虫散、荆防败毒散、公英散。薄层色谱方法经济、操作简单可行,可以作为快速筛选方法;由于中药成分比较复杂,本试验对液相色谱方法不断摸索,前后选择了两种流动相,通过优化色谱条件,提高了分离效果,可以对非法添加的磺胺喹噁啉进一步确证。

作者简介:高迎春(1957年-),女,研究员,从事兽药和畜禽产品质量监督检验及科研工作。E-mail: gaoyingchun@ivdc.gov.cn

## 1 仪器与试剂

1.1 仪器 GF<sub>254</sub>薄层分析板(10 cm × 20 cm); SB3200/KQ3200超声波清洗仪, 昆山超声仪器有限公司。天平: 感量 0.01 g; 分析天平: 感量 0.000 01 g; Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 公司; 滤膜(0.22 μm)。

1.2 药品及试剂 正丁醇、浓氨水均为分析纯; 磷酸、冰乙酸均为优级纯; 甲醇、乙腈均为色谱纯; 水为超纯水。磺胺喹噁啉钠原料, 吴江市博霖实业有限公司, 批号 08030703, 经红外光谱鉴别, 含量 98.9%, 作为对照品; 散剂和阳性添加散剂均为本实验室自制小样, 8种散剂包括: 白头翁散、黄连解毒散、公英散、止痢散、清瘟败毒散、鸡球虫散、荆防败毒散、四黄止痢颗粒。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

2.1.1 薄层色谱方法展开剂: 正丁醇 - 浓氨水(15:3); 吸附剂: GF<sub>254</sub>薄层色谱板。

2.1.2 液相色谱方法的色谱条件: 色谱柱: C<sub>18</sub>柱, 150 mm × 4.6 mm (i.d.), 粒径 5 μm; 流动相 A 为 0.017 mol/L 磷酸溶液 - 乙腈(80:20); 流动相 B 为甲醇 - 乙腈 - 水 - 冰乙酸(2:2:9:0.2); 流速 0.8 mL/min; 紫外检测器, 检测波长 270 nm; 进样量 20 μL; 柱温为室温。

2.2 样品制备 阴性样品的制备: 按照各产品处方, 自制阴性样品。阳性添加样品(含磺胺喹噁啉钠 0.5%)的制备: 取磺胺喹噁啉钠 0.005 g 添加到 1 g 自制阴性样品中。每种散剂作 6 个重复添加。

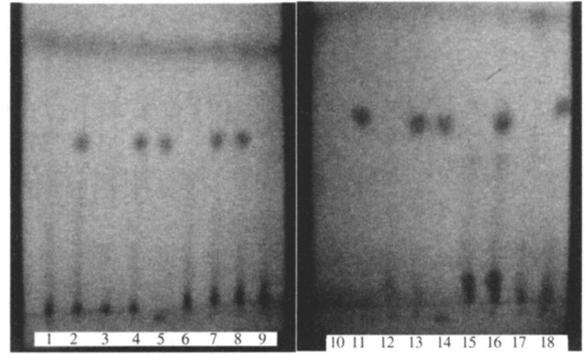
### 2.3 提取方法

2.3.1 取各种样品 1 g 加乙醇 10 mL, 超声处理 5 min, 滤过, 滤液作为 TLC 供试品溶液。取滤液用流动相稀释 40 倍, 0.25 μm 滤膜滤过, 滤液作为 HPLC 供试品溶液。

2.3.2 取对照品 0.01 g, 加乙醇 10 mL, 超声处理 5 min, 作为 TLC 对照品溶液。取本溶液适量稀释, 配制成 0.5、2.5、10、20、50 μg/mL 的系列浓度, 浓度为 5 μg/mL 的溶液作为 HPLC 对照品溶液。

### 2.4 方法与结果

2.4.1 取 TLC 供试品溶液及 TLC 对照品溶液各 2 μL, 点于硅胶 GF<sub>254</sub>薄层板上, 以正丁醇 - 浓氨水(15:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)下检视, 结果见图 1。

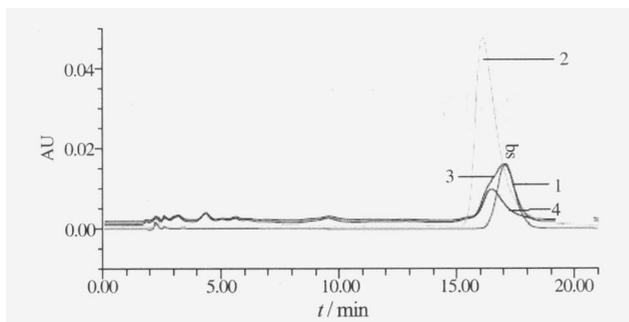


1. 止痢散阴性样品; 2. 止痢散阳性添加样品;  
3. 四黄止痢颗粒阴性样品; 4. 四黄止痢颗粒阳性添加样品;  
5. 磺胺喹噁啉钠对照品; 6. 黄连解毒散阴性样品;  
7. 黄连解毒散阳性添加样品; 8. 清瘟败毒散阳性添加样品;  
9. 清瘟败毒散阴性样品; 10. 白头翁散阴性样品;  
11. 白头翁散阳性添加样品; 12. 鸡球虫散阴性样品;  
13. 鸡球虫散阳性添加样品; 14. 磺胺喹噁啉钠对照品;  
15. 荆防败毒散阴性样品; 16. 荆防败毒散阳性添加样品;  
17. 公英散阴性样品; 18. 公英散阳性添加样品

图 1 以正丁醇 - 浓氨水(15:3)为展开剂的薄层色谱图

结果显示, 阳性添加样品展开后与磺胺喹噁啉钠对照品具有位置相同颜色相同的斑点, 而阴性样品无斑点。本方法在阳性添加系统中得到良好的分离度, 阴性对照无干扰。说明本方法可有效地避免假阳性与假阴性结果的产生。

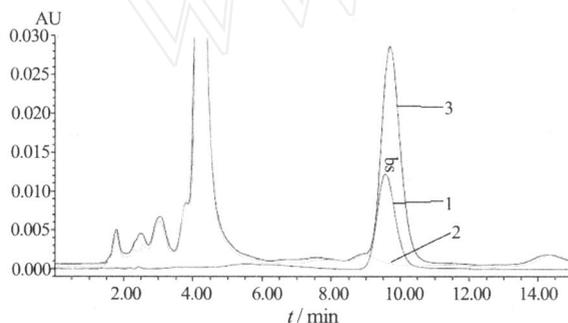
2.4.2 采用流动相 A, 观察色谱图发现, 8种复方制剂中, 只有止痢散、鸡球虫散、公英散, 在磺胺喹噁啉钠出峰处保留时间 17 min 附近没有任何干扰峰, 四黄止痢颗粒、黄连解毒散、清瘟败毒散、白头翁散、荆防败毒散均有高低不同的一个主峰干扰磺胺喹噁啉钠出峰时间, 阳性添加样品中的磺胺喹噁啉钠和主峰融合成一个肩峰(见图 2), 通过比较处方发现有上述干扰的各种散剂均含有不同比例的黄连和/或黄柏, 从其干扰峰的峰高来看, 正好与散剂中含有黄连和/或黄柏的比例大体一致, 初步猜测可能是由于盐酸小檗碱的干扰。另试验, 取盐酸小檗碱对照品、黄连对照药材黄柏对照药材做同样前处理后, 作适量稀释, 液相色谱测定。干扰主峰和盐酸小檗碱的保留时间一致, 由此证明是由复方中黄连和黄柏的共同的有效成分盐酸小檗碱造成的干扰。



1. 标准样品 sq10; 2. 盐酸小檗碱对照品  
3. 阳性添加样品; 4. 阴性样品

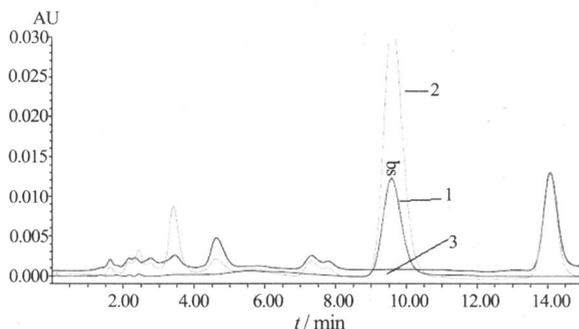
图 2 盐酸小檗碱和黄连解毒散阳性添加样品和阴性样品色谱图

2.4.3 为了避开盐酸小檗碱造成的干扰,改用流动相 B:甲醇-乙腈-水-冰乙酸(2:2:9:0.2),发现盐酸小檗碱的保留时间提前在 4.1 min 左右(见图 3),而磺胺喹噁啉钠的保留时间在 9.5 min 左右(见图 3、图 4),阴性样品无干扰,阳性添加样品可以完全检出磺胺喹噁啉钠的存在。8 种散剂采用流动相 B:甲醇-乙腈-水-冰乙酸(2:2:9:0.2),及相应的色谱条件,如添加磺胺喹噁啉钠即可检出。此方法快速简单可行,可以对中药中非法添加磺胺类药物进行快速筛选。



1. 标准样品 sq5; 2. 阴性样品; 3. 阳性添加样品

图 3 黄连解毒散阳性添加样品和阴性样品色谱图



1. 标准样品 sq5; 2. 阳性添加样品; 3. 阴性样品

图 4 鸡球虫散阳性添加样品和阴性样品色谱图

2.4.4 采用流动相 B,本试验测得磺胺喹噁啉钠标准溶液浓度在 0.5 ~ 50  $\mu\text{g/mL}$  范围内,其线性回归方程为  $Y = 6.1 \times 10^4 X + 1.36 \times 10^4$ ,相关系数为:  $R = 0.999985$ ,由此看出本方法具有良好的线性响应。其阳性添加回收率均在 75% ~ 110% 范围内,批内变异系数均小于 10% (见表 1),本方法回收率完全满足要求。

表 1 8 种散剂中添加 5 mg/g 磺胺喹噁啉药物回收率试验结果 ( $n = 6$ )

中药散剂	回收率 / %	平均回收率 / %	批内 RSD / %
四黄止痢颗粒	83.6, 85.9, 90.5, 101.5, 87.3, 92.3	90.2	6.4
黄连解毒散	95.2, 89.1, 96.3, 96.8, 99.9, 102.3	96.6	4.3
清瘟败毒散	79.6, 82.5, 90.6, 85.1, 96.3, 99.6	88.9	8.1
白头翁散	106.3, 97.8, 84.6, 105.1, 86.3, 92.6	95.4	8.8
荆防败毒散	101.2, 103.1, 95.6, 92.1, 88.6, 83.7	94.0	7.2
止痢散	96.5, 85.9, 95.9, 95.6, 105.3, 90.2	94.9	6.3
鸡球虫散	95.3, 85.9, 88.6, 87.3, 90.2, 86.9	89.0	3.5
公英散	95.3, 85.1, 81.9, 92.7, 98.3, 86.9	90.0	6.5

### 3 结论与讨论

对 8 种中药散剂中非法添加磺胺喹噁啉钠,在同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上,采用同一展开剂,薄层色谱方法对大量的样品可以进行同位比较和鉴别。0.5% 的添加检出限是根据临床应用而定的,临床应用低于 0.5% 无意义,如非法添加其含量必定大于 0.5%。薄层色谱方法干扰少,准确率高,简便、快捷、可同时鉴别大量样品。与液相法比较,成本低,时间快,样品适应性高,尤其适合中小型养殖企业选择药物时应用。

对于液相色谱方法,流动相的选择是方法的关键问题。在选用流动相 A 时,出现了很多干扰峰,尤其是盐酸小檗碱的干扰,常常含有黄连或者黄柏的中兽药散剂外贸出口时,采用动物源食品中磺胺类药物残留检测方法<sup>[1]</sup>的色谱条件进行检测常检出假阳性,可能与中药中的盐酸小檗碱有关。后面的实验,我们将进一步证实,中药中的盐酸小檗碱,因流动相的不同,在不同的保留时间对其他磺胺类药物造成不同程度的干扰。

对 8 种中兽药散剂中非法添加磺胺喹噁啉钠,应用液相色谱方法,可以对大量样品进行鉴别,适合经济条件好的具备高效液相色谱仪的大型养殖集团对药物进行鉴别,从源头杜绝磺胺药的非法添加引起的药物残留超标等问题,以保证动物源食品安全和公共卫生安全。

### 参考文献:

- [1] 农牧发[2001]38号. 动物源食品中磺胺类药物残留检测方法[S].