

女金丸中苋菜红、日落黄和亮蓝染色的定性检测

LC-240

摘要：本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪建立了女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝染色的定性方法，女金丸经 50% 甲醇超声提取，采用 PDA 检测器在 521 nm 检测苋菜红、484 nm 检测日落黄、629 nm 检测亮蓝，样品中未检出三种目标物。女金丸加标样品中苋菜红、日落黄、亮蓝的保留时间分别为 9.07 min、17.47 min、25.50 min，苋菜红理论塔板数为 4424，与苋菜红、日落黄、亮蓝在 200-700 nm 光谱图比较，相似度分别为 98.05%、99.52%、99.31%，可判定为苋菜红、日落黄、亮蓝。该方法准确可靠，可为相关企业检测女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝提供帮助。

关键词：高效液相色谱法 苋菜红 日落黄 亮蓝 女金丸

女金丸由当归、党参、黄芩等 23 味中药材制成，具有益气养血的作用。据市场调查显示，有部分企业生产的该药品存在非法染色的现象，主要是由于中药材原材料被染色，主要涉及的染料有苋菜红、日落黄、亮蓝三种。这三种染料都属于水溶性的人工合成色素，长期摄入体会损伤肾脏和肝脏，甚至有致癌性。

国家药监局此前发布了《女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝检查项补充检验方法 (BJY 201907)》规定了苋菜红、

日落黄、亮蓝染色的定性测定方法。要求采用液相色谱法，以保留时间、PDA 光谱图信息对苋菜红、日落黄、亮蓝进行定性识别。

本实验使用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，参考补充检验方法中的要求对女金丸中的苋菜红、日落黄、亮蓝进行定性测定，该方法准确可靠，可为相关企业检测女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝提供帮助。

■ 实验部分

1.1 仪器

输液泵：LC-40B X3	系统控制器：CBM-40Lite
柱温箱：CTO-40S	检测器：SPD-M30A
自动进样器：SIL-40C X3	色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30017-08)

流动相：A: 50 mm 乙酸铵水溶液； B: 甲醇

流速：1 mL/min

柱温：40°C

检测波长：484、521、629 nm

进样体积：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序如表 1 所示

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	20
20.00	Pumps	Pump B Conc.	45
30.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.00	Pumps	Pump B Conc.	58
55.00	Pumps	Pump B Conc.	64
65.00	Controller	Stop	

1.3 样品前处理

对照品溶液的制备：取苋菜红、日落黄、亮蓝对照品适量，加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备：取女金丸 2 g，加硅藻土 1 g，研细，加入 50% 甲醇 20 mL，超声处理 30 min，过滤后取续滤液，即得。

1.4 结果判断

供试品色谱中，在与苋菜红、日落黄、亮蓝对照品溶液色谱峰保留时间相应的位置上不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰在 200 nm—700 nm 波长范围内的紫外 - 可见吸收光谱，吸收光谱应不相同。（源自《女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝检查项补充实验方法（BJY 201907）》，国家药品监督管理局，2019 年 7 月）

■ 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

按 1.2 中的分析条件，对苋菜红、日落黄、亮蓝标准品溶液进行测定，苋菜红、日落黄、亮蓝的保留时间分别为 9.07、17.40、25.53，苋菜红理论塔板数为 4424，系统适用性满足要求，三种染料混合对照品溶液、供试品溶液、供试品加标溶液色谱图如图 1、2、3 所示。供试品中未检出苋菜红、日落黄、亮蓝，供试品加标样品中可检出苋菜红、日落黄、亮蓝，因此可判定女金丸中不含苋菜红、日落黄、亮蓝，结果符合预期。

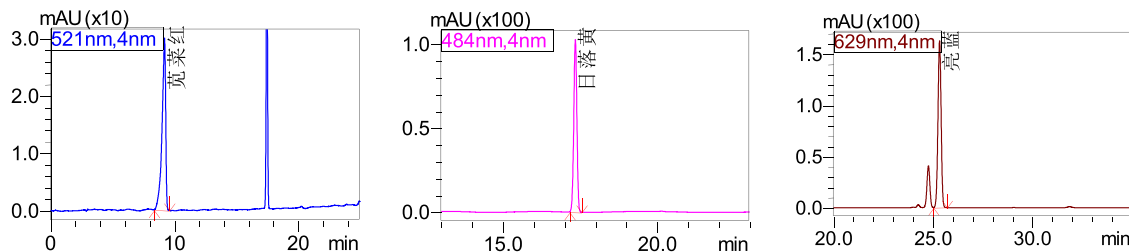


图 1 苋菜红、日落黄、亮蓝对照品溶液色谱图 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

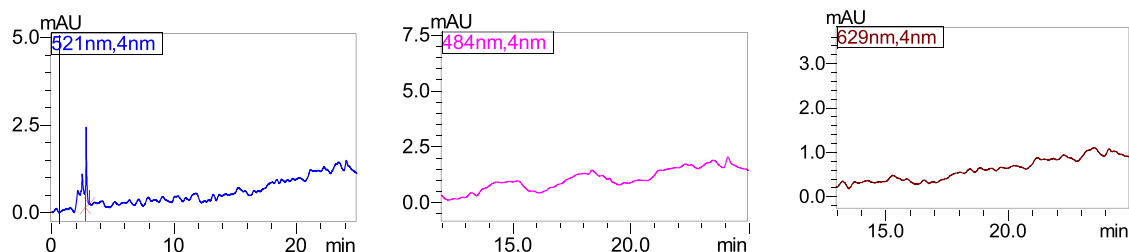


图 2 女金丸供试品溶液色谱图

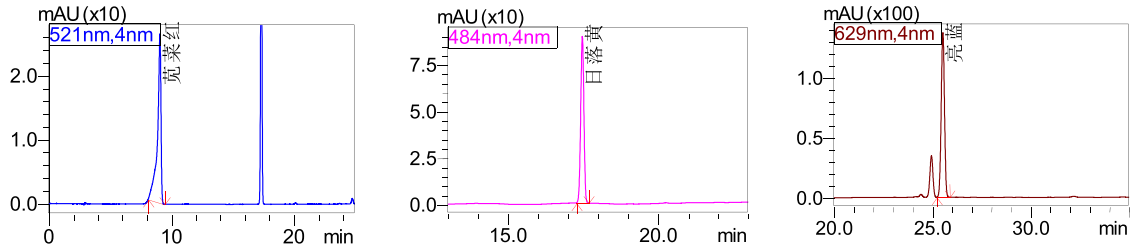


图3 供试品加标溶液色谱图

2.2 光谱相似度判定结果

供试品加标溶液中苋菜红、日落黄、亮蓝的保留时间分别为：9.07 min、17.47 min、25.50 min，与对照品溶液保留时间一致，苋菜红、日落黄、亮蓝对照品和供试品加标样品对应色谱图的光谱图和相似度对比结果，如图4、5所示，其光谱相似度分别为 98.05%、99.52%、99.31%，光谱相似度高，可判定为苋菜红、日落黄、亮蓝。

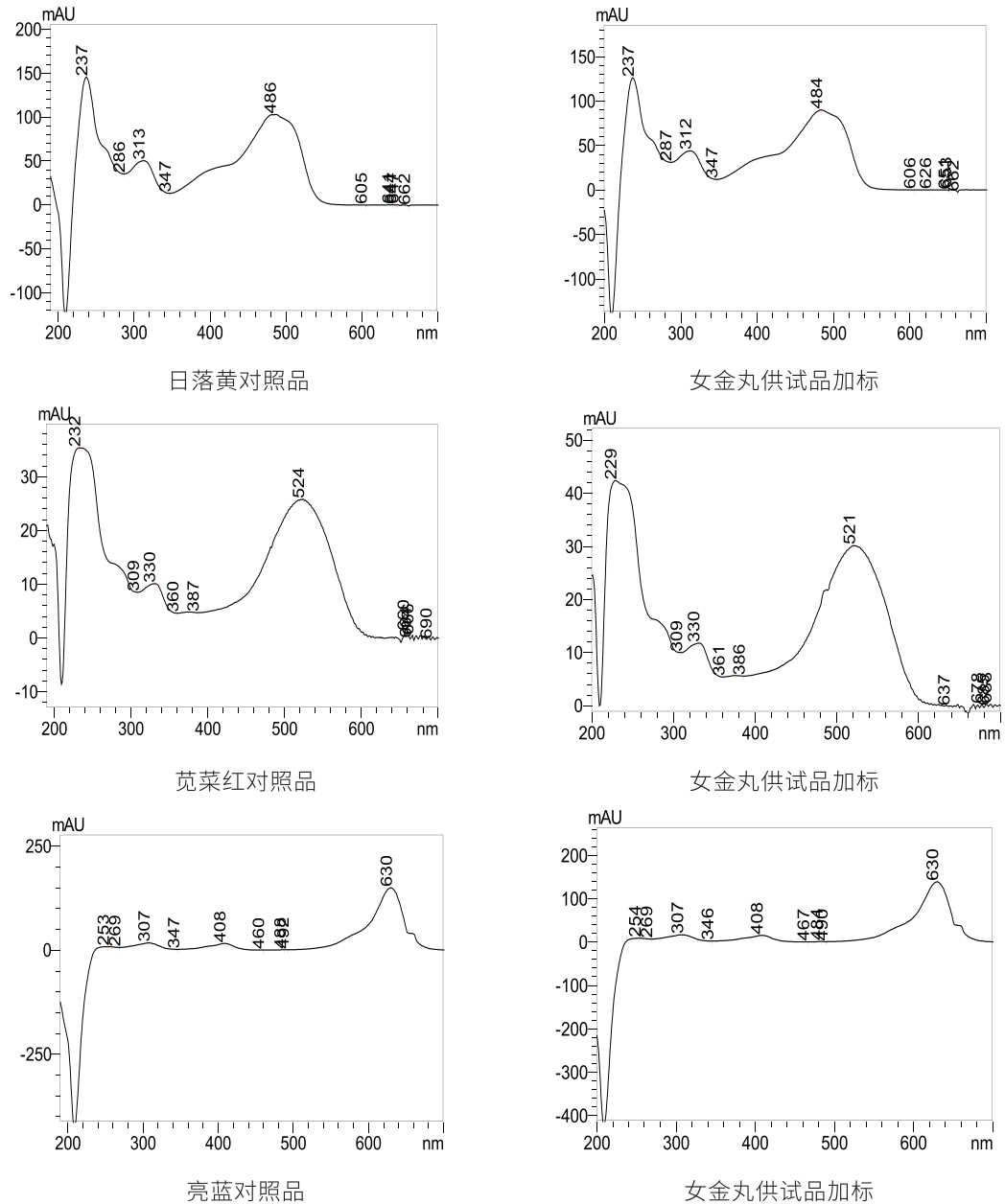


图4 对照品、供试品加标样品光谱图

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	<input checked="" type="checkbox"/>	时间	17.47053	设置	1.00	237/484/312/653/676	287/347/606/662/210	0.9952	1
2	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	日落黄.jcm	设置	1.00	237/481/313/637/647	287/347/644/605/662	Ref	

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	<input checked="" type="checkbox"/>	时间	9.07442	设置	1.00	238/520/330/688/667	309/361/644/691/6	0.9805	2
2	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	苋菜红.jcm	设置	1.00	232/524/330/660/677	309/387/360/630/6	Ref	

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	<input checked="" type="checkbox"/>	时间	25.5018	设置	1.00	630/307/408/254/484	269/346/467/490/209	0.9931	3
2	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	亮蓝.jcm	设置	1.00	630/307/408/253/488	269/347/492/460/209	Ref	
3	<input type="checkbox"/>	时间	0.01000	设置	1.00				

图 5 光谱相似度对比

2.3 检出限及定量限

对加标浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 的女金丸供试品加标溶液进样分析，由信噪比计算苋菜红、日落黄、亮蓝的检出限及定量限（LOD, $S/N=3$; LOQ, $S/N=10$ ），结果如表 2 所示。

表 2 苋菜红、日落黄、亮蓝的检出限和定量限

名称	基质	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
苋菜红	女金丸	1.51	4.56
日落黄	女金丸	0.04	0.13
亮蓝	女金丸	0.11	0.32

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，参考补充检验方法中的要求对女金丸中的苋菜红、日落黄、亮蓝进行定性测定。该方法基于色谱保留时间、UV 光谱进行定性，准确度高，可为相关企业检测女金丸中苋菜红、日落黄、亮蓝提供帮助。

岛津应用云

