

参三七伤药胶囊中苏丹红IV染色的定性检测

LC-238

摘要：本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪建立了参三七伤药胶囊中苏丹红IV染色的定性方法，参三七伤药胶囊经乙醇超声提取，采用 PDA 检测器在 520 nm 波长下检测苏丹红IV紫外吸收峰，样品中未检出目标物苏丹红IV，参三七伤药胶囊加标样品在 RT=34.57 min 处检测到苏丹红IV，理论塔板数为 222337，与苏丹红IV在 400-600 nm 光谱图比较，相似度为 99.99%，可判定为苏丹红IV。该方法准确可靠，可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红IV提供帮助。

关键词：高效液相色谱法 苏丹红IV 参三七伤药胶囊

参三七伤药胶囊由三七、红花、血竭等中药材制成，具有活血祛瘀、通经活络的作用。据报道在市场流通的劣质中药材，如血竭、红花等药材中被检出到用苏丹红IV进行非法染色。苏丹红IV，是一种人工合成的偶氮类化工原料，也是实验室常用的化学试剂，主要用于油脂、橡胶玩具、塑料制品等的染色，其代谢产物具有一定的致癌性，因此多数国家禁止将其用于食品生产。

国家药监局此前发布了《参三七伤药胶囊（片）中松香酸与苏丹红IV检查项补充检验方法（BJY 202005）》规定了苏丹红IV染色的定性测定方法。要求采用液相色谱法，以保留时间、PDA 光谱图信息对苏丹红IV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参三七伤药胶囊中的苏丹红IV进行定性测定，该方法准确可靠，可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红IV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：20 mm 乙酸铵水溶液； B：乙腈

流速：1 mL/min

柱温：40°C

检测波长：520 nm

进样体积：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
20.00	Pumps	Pump B Conc.	80
21.00	Pumps	Pump B Conc.	85
30.00	Pumps	Pump B Conc.	95
42.00	Pumps	Pump B Conc.	95
43.00	Pumps	Pump B Conc.	20
55.00	Controller	Stop	

1.3 样品前处理

对照品溶液的制备：取苏丹红IV对照品适量，加乙醇制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液。

供试品溶液的制备：取参三七伤药胶囊内容物 2 g，加 20 mL 乙醇，超声处理 20 min，过滤后取续滤液，即得。

1.4 结果判断

供试品色谱中，在与苏丹红 IV 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 400 nm—600 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《参三七伤药胶囊（片）中松香酸与苏丹红 IV 检查项补充验方法（BJY 202005）》，国家药品监督管理局，2020 年 05 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，对苏丹红 IV 标准品溶液进行测定，苏丹红 IV 的保留时间为 34.59 min，理论塔板数为 226744，系统适用性满足要求，苏丹红 IV 对照品、供试品溶液、供试品加标溶液色谱图如图 1、2、3 所示。供试品中未检出苏丹红 IV，供试品加标样品中可检出苏丹红 IV，因此可判定参三七伤药胶囊中不含苏丹红 IV，结果符合预期。

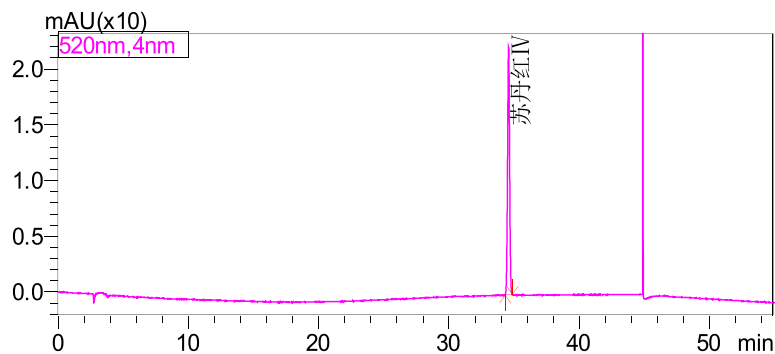


图 1 苏丹红IV对照品溶液色谱图 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

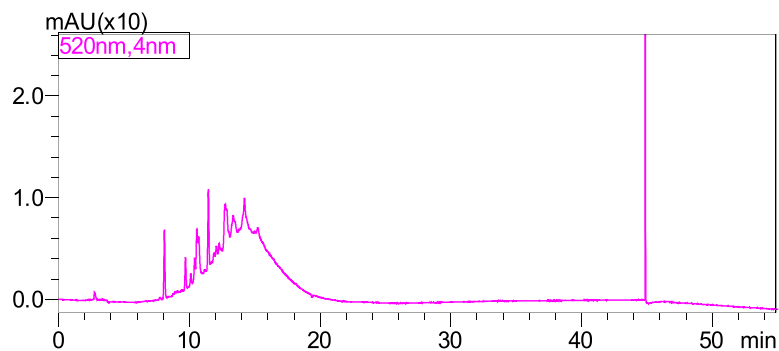


图 2 参三七伤药胶囊供试品溶液色谱图

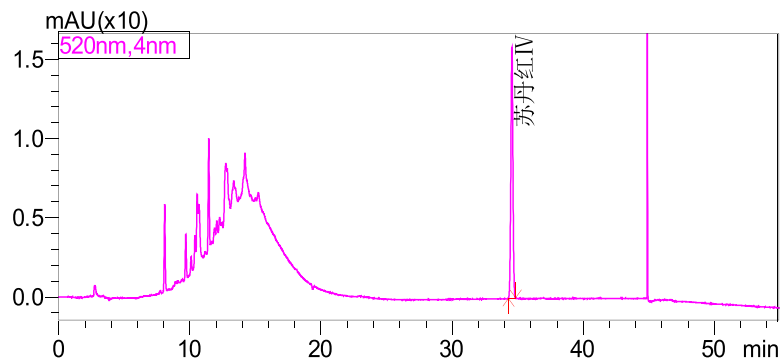


图3 供试品加标溶液色谱图

2.2 光谱相似度判定结果

供试品加标溶液中苏丹红IV的保留时间为 34.59 min，苏丹红IV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，其光谱相似度为 99.99%，光谱相似度高，可判定为苏丹红IV。

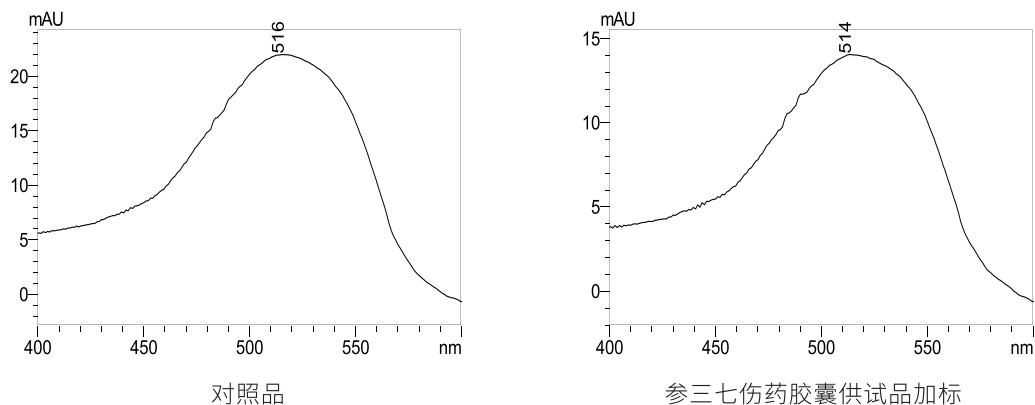


图4 对照品、供试品加标样品光谱图 (RT=34.59 min)

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	34.59040	设置	1.00	514		0.9999	1
2	<input checked="" type="checkbox"/>	光谱	苏丹红IV.jcm	设置	1.00	516		Ref	

图5 光谱相似度对比

2.3 检出限及定量限

对加标浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的参三七伤药胶囊供试品加标溶液进样分析，由信噪比计算苏丹红IV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 苏丹红IV的检出限和定量限

名称	基质	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
苏丹红IV	参三七伤药胶囊	0.07	0.21

■ 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参三七伤药胶囊中的苏丹红 IV 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，可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红 IV 提供帮助。

岛津应用云

