

朱砂中添加色素的 HPLC-Q-TOF/MS 分析以及 TLC 和 HPLC 检测方法的建立*

张燕飞¹, 耿昭^{1,2}, 黄再强¹, 胡明勋¹, 王甜甜¹, 陈玲¹, 李心怡¹,
蒋运斌¹, 汤韵秋¹, 解云彤¹, 周娟², 马逾英^{1**}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 四川省食品药品检验检测院, 成都 610079)

摘要 目的: 采用高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(HPLC-Q-TOF/MS)技术对 11 批疑似添加色素的朱砂样品中添加色素进行分析鉴定; 并建立相应添加色素的 TLC 和 HPLC 检测方法。**方法:** 采用正离子扫描方式, 依据高分辨质谱提供的准分子离子峰和碎片离子的精确分子质量信息, 确证有关物质及其特征碎片离子的分子组成; 再结合对照品对照与相关文献数据, 鉴定朱砂中添加的色素。采用 TLC 和 HPLC 建立朱砂药材中色素的检测方法。**结果:** 应用 HPLC-Q-TOF/MS 法明确了朱砂中添加的色素为 808 猩红、金光红 C、苏丹红 IV 3 种偶氮类色素; 样品的 TLC 图谱斑点清晰, 分离度好; 样品的 HPLC 图谱中 808 猩红、金光红 C、苏丹红 IV 色谱峰分离度好, 耐用性好; 11 批朱砂中均检出有 808 猩红, 7 批均检出金光红 C, 3 批检出苏丹红 IV。**结论:** 本实验建立的 TLC 和 HPLC 方法简便, 专属性强, 可为朱砂药材的质量控制提供一定的参考; HPLC-Q-TOF-MS 技术可快速鉴别朱砂中添加的色素。

关键词: 矿物药; 朱砂; 辰砂; 硫化汞; 偶氮类色素; 金光红 C; 808 猩红; 苏丹红 IV; 安全监测; 液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2017)05-0852-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.05.16

Analysis of added pigments in cinnabar by HPLC-Q-TOF/MS and establishment of determination method by TLC and HPLC*

ZHANG Yan-fei¹, GENG Zhao^{1,2}, HUANG Zai-qiang¹, HU Ming-xun¹,
WANG Tian-tian¹, CHEN Ling¹, LI Xin-yi¹, JIANG Yun-bing¹,
TANG Yun-qiu¹, XIE Yun-tong¹, ZHOU Juan², MA Yu-ying^{1**}

(1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Sichuan Provincial Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610079, China)

Abstract Objective: To identify suspiciously added pigments in 11 batches of cinnabar samples by high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight tandem mass spectrometry (HPLC-

* 中药安全检测技术及标准平台项目(2014ZX09304307)

** 通信作者 Tel:13678189939; E-mail:ma-yuying@126.com

第一作者 Tel:18081101733; E-mail: 1301379170@qq.com

Q-TOF/MS) and to establish the corresponding determination method by TLC and HPLC. **Methods:** Positive ion scanning mode was used in TOF-MS. The pigments were identified based on precise molecular weight of the quasi-molecular ions and their fragment ions, with aid of reference substances and literature review. And the corresponding determination method was established by TLC and HPLC methods. **Results:** Three azo pigments, namely 808 scarlet, lake red C and sudan IV were identified. TLC chromatograms showed clear spots with good resolution. HPLC chromatograms of 808 scarlet, lake red C and sudan IV showed good resolution and durability. 808 scarlet was detected in all samples, lake red C was detected in 7 samples and sudan IV was detected in 3 samples. **Conclusion:** The established TLC and HPLC methods were simple and exclusive, which offered reference for quality control of cinnabar. HPLC-Q-TOF-MS method could identify the pigments in cinnabar accurately and rapidly.

Keywords: mineral medicine; cinnabar; vermilion; HgS; azo pigment; lake red C; 808 scarlet; sudan IV; safety monitoring; HPLC-Q-TOF/MS; TLC; HPLC

朱砂为硫化物类矿石辰砂组辰砂, 主含硫化汞 (HgS)。收载于中国药典 2015 年版一部, 具有镇惊安神、清热解毒的功效, 可用于心悸易惊、失眠多梦、癫痫发狂、小儿惊风、口疮、喉痹、疮疡肿毒^[1]。文献^[2-5]中对朱砂的研究多集中在 HgS 的含量测定、毒性和朱砂炮制工艺, 但本课题 (该课题是国家“十二五”科技重大专项课题“中药安全监测技术及标准平台”中子课题“中药质量安全监测和风险控制技术平台”) 组前期市场调研发现, 朱砂价格不等, 且颜色差异较大, 单凭常规鉴别已很难区分是否添加了化学染料。有文献报道^[6]市场上存在以 808 猩红和碳酸钙粉制成的朱砂药材, 808 猩红为常见的偶氮类化工染色剂, 常用于油漆、皮革、油墨等的着色剂, 其在体内经过生物转化分解, 形成相应的苯胺类及萘酚类物质; 胺类可直接作用于肝细胞, 引起中毒性肝病, 甚至诱导肝细胞基因变异, 增加了人体癌变的几率, 萘酚类具有致癌、致畸、致敏、致突变的潜在毒性, 国际癌症研究机构 (IARC) 将苯胺和苏丹红归为第 3 类可致癌物质^[7-9]。因此本实验对从市场上购买的 11 批疑似添加色素的朱砂样品进行了 HPLC-Q-TOF/MS 分析, 以及对照品对照分析, 确定了这些朱砂样品中确实添加了金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 3 种偶氮类色素; 同时本课题组还建立了以上 3 种色素的 TLC、HPLC 检测方法, 为朱砂药材的质量控制提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

硅胶 G 板 (10 cm × 20 cm; 青岛海洋化工分厂), 可剪裁硅胶 G 板 (10 cm × 20 cm; 天津思利达科技有限公司), Agilent 1200 高效液相色谱仪 (Agilent 公司), Agilent 6540 QTOF 飞行时间质谱仪 (Agilent 公司), Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm × 100 mm,

2.7 μm; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; Agilent 公司), Welch Ultimate® XB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; 月旭材料科技上海有限公司), MS1602S 电子天平 (METTLER TOLEDO 公司), CPA225D 电子天平 (Sartorius 公司), HS-20500D 超声清洗仪 (500 W, 40 kHz, 上海重逢科学仪器有限公司), Millipore Milli-QA 超纯水器 (Millipore 公司), Sigma 3-30k 离心机 (Sigma 公司)。

1.2 试药

11 批市售朱砂药材; 朱砂阴性样品: 四川省食品药品检验检测院标本室留样; 金光红 C 对照品 (北京振翔科技有限公司, 批号 130910, 纯度 99.8%), 808 猩红对照品 (中国食品药品检定研究院, 供检查用, 使用前无需处理, 批号 111940-201201), 苏丹红 IV 对照品 (Labor Dr.Ehrenstorfer-Schafers Bgm-Schlosser-Str.6A 86199Augsburg Germany, 批号 40121, 纯度 94.0%)。乙腈为色谱纯, 水为自制超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 添加色素的确认

2.1.1 液质联用色谱条件

色谱条件: 采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm × 100 mm, 2.7 μm), 柱温 35 °C, 流动相为乙腈 (A) - 0.02 mol · L⁻¹ 乙酸铵溶液 (B), 梯度洗脱 (0~27 min, 95%A → 5%A; 27~35 min, 5%A), 流速 0.4 mL · min⁻¹。二极管阵列检测器检测。

质谱条件: 扫描模式为 ESI⁺, 质谱扫描范围 *m/z* 100~1 500, 干燥器温度 325 °C, 干燥气体流速 8 L · min⁻¹, 雾化器压力 380 kPa, 鞘气体温度 350 °C, 鞘气流速 11 L · min⁻¹, 毛细管电压 4 kV, 碰撞电压 135 V。

2.1.2 溶液的制备

2.1.2.1 供试品溶液 取朱砂药材 0.5 g, 加 *N,N*-二

甲基甲酰胺 20 mL, 超声 (500 W, 40 kHz) 处理 20 min, 取续滤液作为供试品溶液。进样前过 0.22 μm 的微孔滤膜。

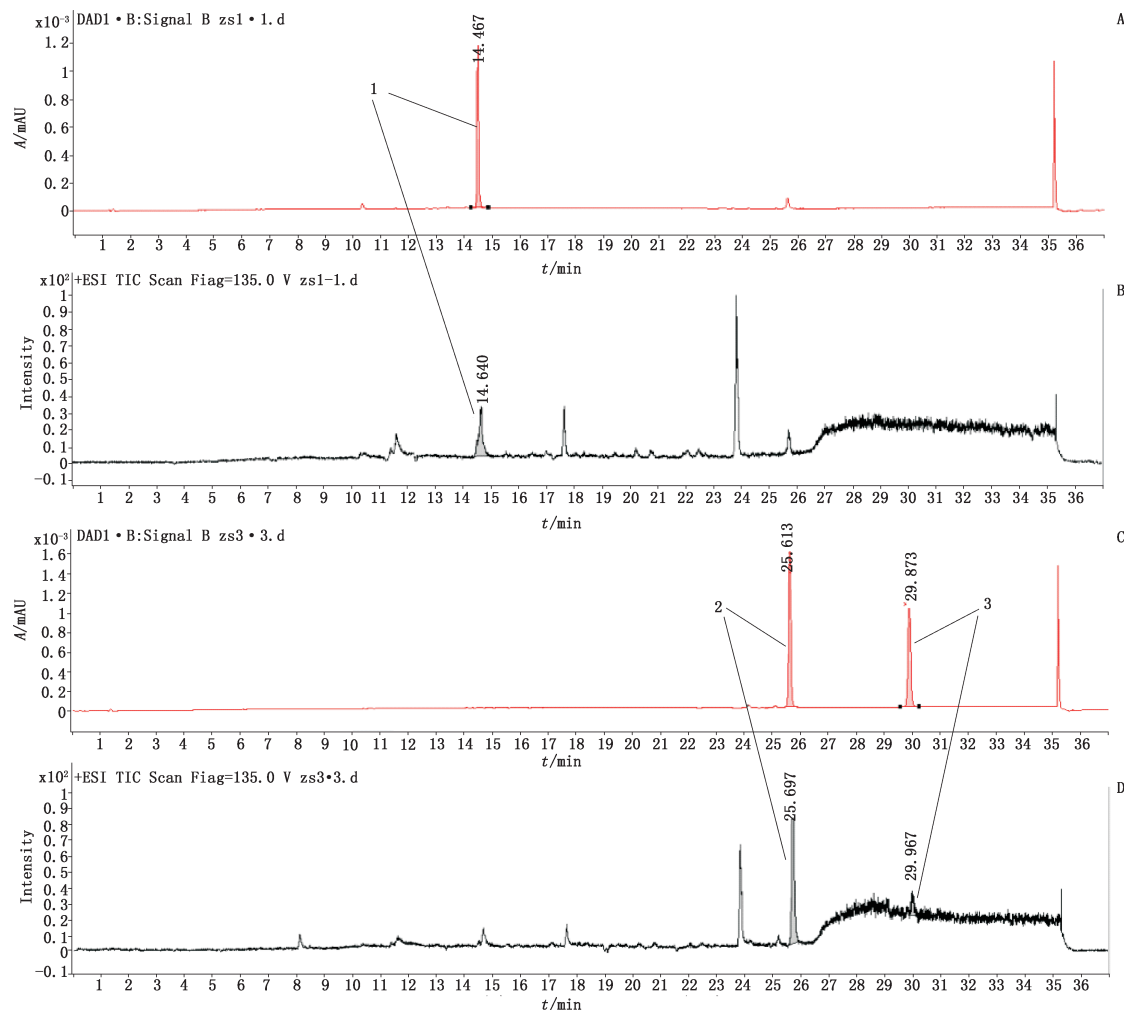
2.1.2.2 对照品储备液 取金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 的对照品适量, 加 *N,N*-二甲基甲酰胺分别制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 即得。进样前过 0.22 μm 的微孔滤膜。

2.1.2.3 阴性样品溶液 取朱砂阴性样品 0.5 g, 加 *N,N*-二甲基甲酰胺 20 mL, 超声 (500 W, 40 kHz) 处理 20 min, 取续滤液, 作为阴性样品溶液。进样前过 0.22 μm 的微孔滤膜。

2.1.3 样品的 HPLC-Q-TOF/MS 分析

取“2.1.2.1”项下的供试品溶液, 按照“2.1.1”项下条件进行 HPLC-Q-TOF/MS 分析, 得到各朱砂供试品的总离子流色谱图 (TIC) 和液相色谱图 (HPLC), 部分

样品的图谱见图 1; 与朱砂阴性样品色谱图 (图 2) 相比; 朱砂样品的 TIC 及 HPLC 谱图中出现了保留时间分别为 14.461、25.613、29.873 min 的色谱峰, 按照顺序依次标为 1、2、3。在 TIC 中, 谱峰 1 给出 m/z 377.036 0 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰, 谱峰 2 给出 m/z 368.139 0 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰, 谱峰 3 给出 m/z 381.171 0 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰。对 m/z 377.036 0 $[M+H]^+$ 进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 220.990 3、156.044 0、360.031 2 的碎片离子, 对 m/z 368.139 0 $[M+H]^+$ 进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 275.080 8、219.090 1 的碎片离子, 对 m/z 381.171 0 $[M+H]^+$ 进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 224.117 4、156.043 3、276.116 9 的碎片离子, 相应的谱图见图 3~8。通过与现有色素数据库、谱库查询及查阅文献^[10-14], 初步推断谱峰 1 为金光红 C, 谱峰 2 为 808 猩红, 谱峰 3 苏丹红 IV。



1. 金光红 C (lake red C) 2. 808 猩红 (808 scarlet) 3. 苏丹红 IV (sudan IV)

图 1 朱砂样品 1 液相色谱图 (A) 及 LC-MS 总离子流色谱图 (B) 和朱砂样品 3 液相色谱图 (C) 及 LC-MS 总离子流色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram (A) and LC-MS total ion chromatogram (B) of cinnabar sample 1, HPLC chromatogram (C) and LC-MS total ion chromatogram (D) of cinnabar sample

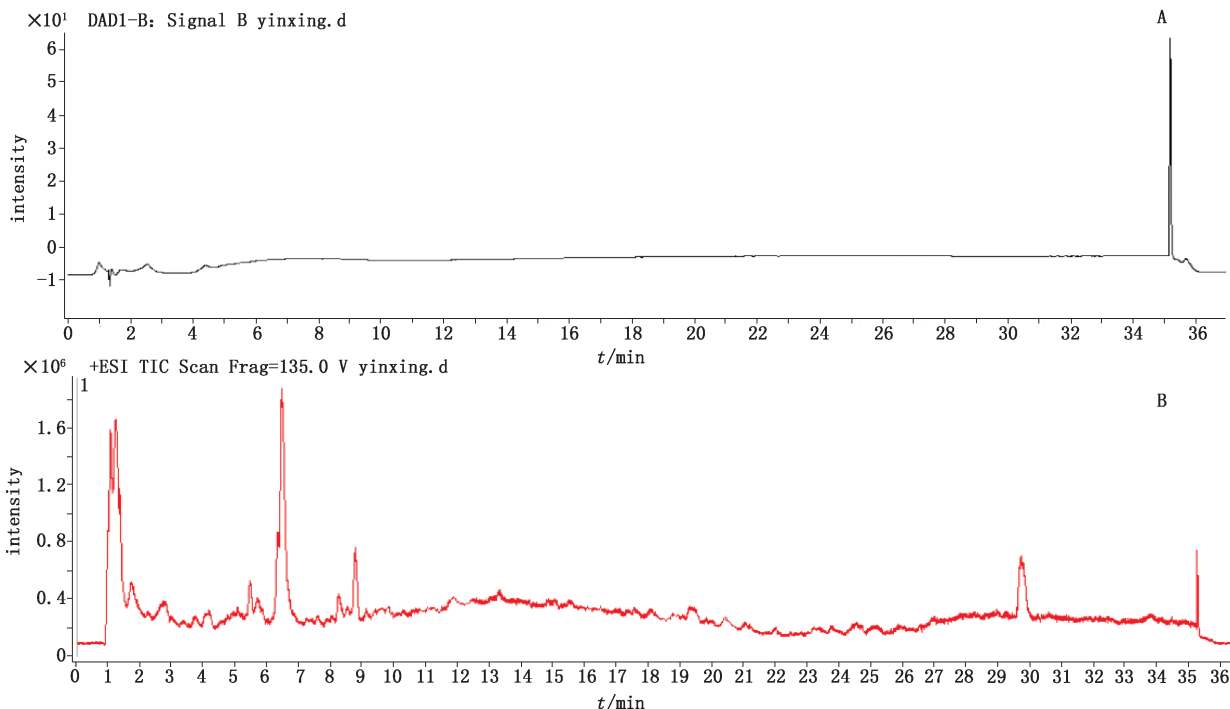
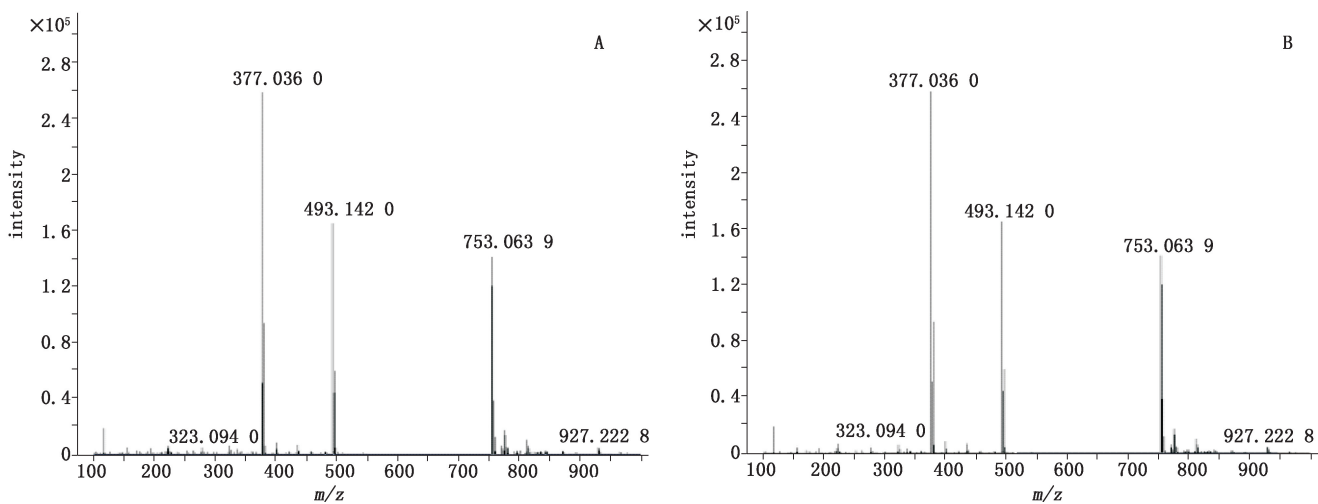


图2 朱砂阴性样品液相色谱图(A)和LC-MS总离子流色谱图(B)
Fig.2 HPLC chromatogram (A) and LC-MS total ion chromatogram (B) of negative cinnabar sample

取“2.1.2.2”项下的对照品储备液,加 *N,N*-二甲基甲酰胺稀释至 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。按照“2.1.1”项下条件进行 HPLC-Q-TOF/MS 分析,得到各对照品 MS 裂解图,结果金光红 C 的一级、二级质谱均与谱峰 1 一致,808 猩红的一级、二级质谱均与谱峰 2 一致,苏丹红 IV 的一级、二级质谱图均与谱峰 3 一致,最

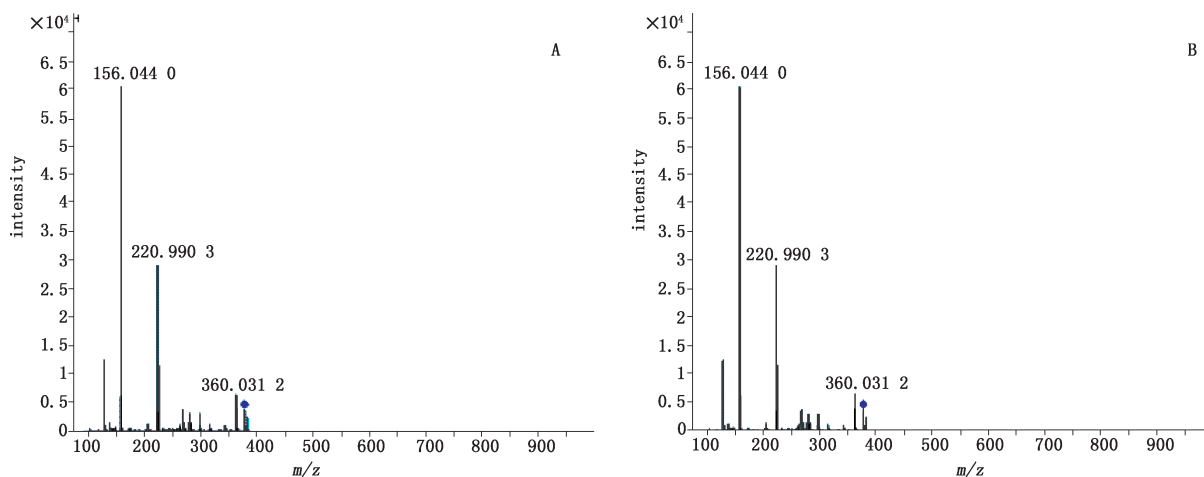
终确定朱砂中非法添加的色素为 808 猩红,苏丹红 IV 和金光红 C,相应的图谱见图 3~8。值得注意的是,金光红 C 固体时 $[\text{M-H}]^+$ 二聚体与 Ba^{2+} 结合成盐,结构式见图 9,其在溶液中 ESI⁺ 模式 $[(2\text{M}-\text{Ba})/2+\text{H}]^+$ m/z 377.036 0 离子峰响应较高,同时可得到二聚体 $[2\text{M}-\text{Ba}+\text{H}]^+$ m/z 为 753.063 9 (见图 3) 的离子峰。



A. 对照品 (standard) B. 样品 1 (sample1)

图3 金光红 C 的一级质谱图

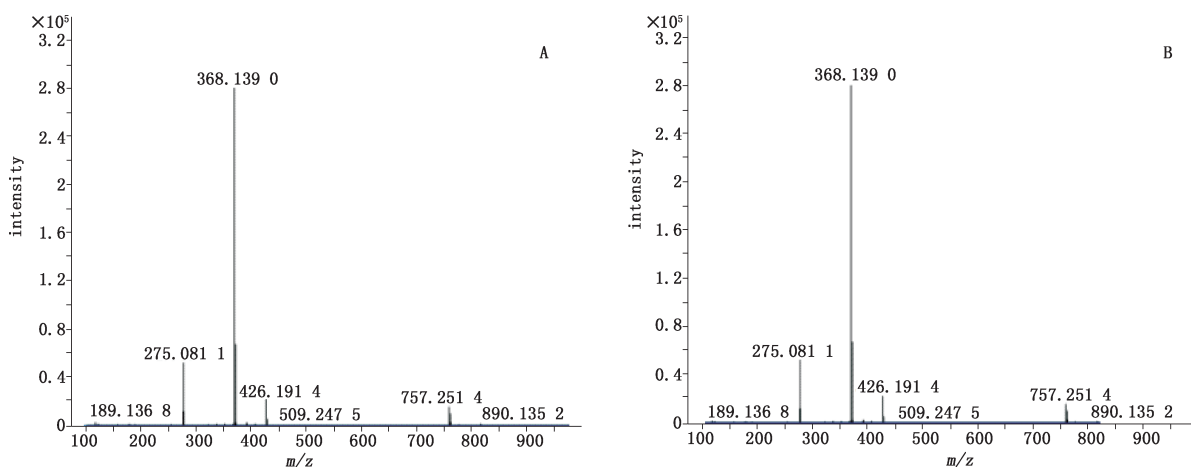
Fig.3 The primary mass spectrogram of lake red C



A. 对照品 (standard) B. 样品 1 (sample1)

图 4 金光红 C 的二级质谱图

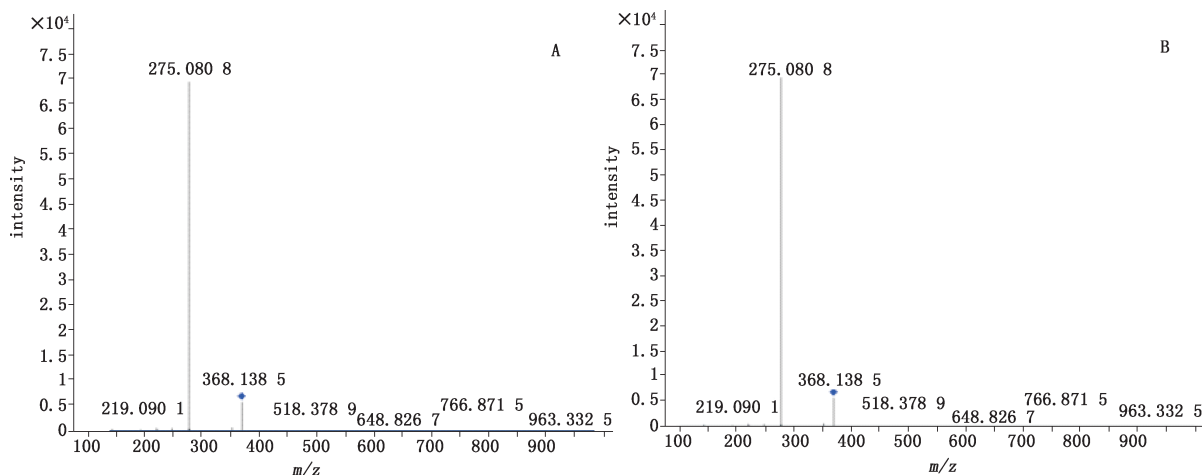
Fig. 4 The secondary mass spectrogram of lake red C



A. 对照品 (standard) B. 样品 1 (sample1)

图 5 808 猩红的一级质谱图

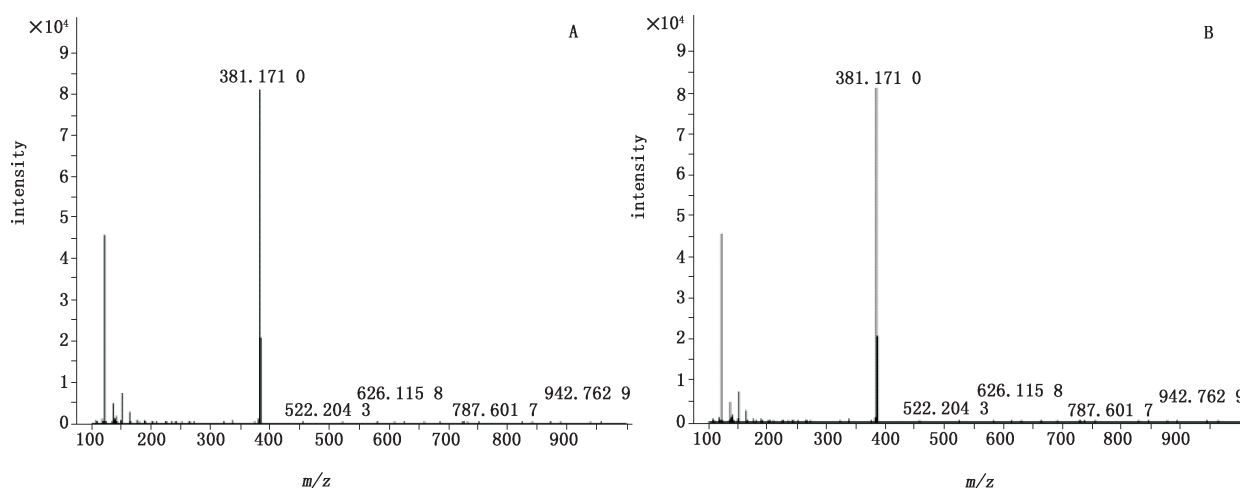
Fig. 5 The primary mass spectrogram of 808 scarlet



A. 对照品 (standard) B. 样品 1 (sample1)

图 6 808 猩红的二级质谱图

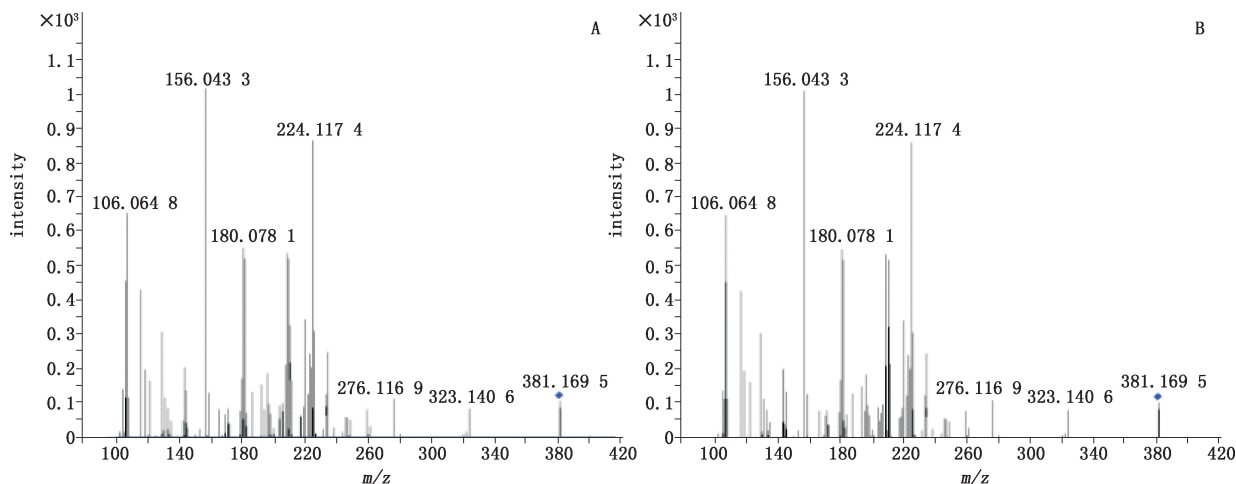
Fig. 6 The secondary mass spectrogram of 808 scarlet



A. 对照品 (standard) B. 样品 3 (sample3)

图 7 苏丹红IV的一级质谱图

Fig. 7 The primary mass spectrogram of sudan IV



A. 对照品 (standard) B. 样品 3 (sample3)

图 8 苏丹红IV的二级质谱图

Fig. 8 The secondary mass spectrogram of sudan IV

2.2 金光红 C、808 猩红、苏丹红IV的 TLC 定性鉴别

2.2.1 薄层色谱条件

薄层板: 硅胶 G 板; 展开剂: 环己烷 - 乙酸乙酯 - 无水乙醇 - 冰乙酸 (7:1:2:0.5); 点样: 供试品溶液与对照品溶液分别点样 10 μL ; 展开方式: 上行展开, 展距 8~10 cm; 日光下检视; 色谱识别: 样品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 能否显相同颜色的斑点。

2.2.2 溶液的制备

同“2.1.2”项方法制备供试品溶液、对照品储备液及阴性样品溶液。

2.2.3 检测限考察

取各对照品储备液适量, 分别加 *N,N*-二甲基甲酰胺稀释, 制备金光红 C 对照品溶液 ($5.36 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、808 猩红对照品溶液 ($5.600 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和苏丹红 IV 对照品溶液 ($3.038 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 分别精密吸取上述 3 种对照品溶液各 1~10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 在上述色谱条件下, 展开 10 cm, 日光下检视。结果当点样量为 3 μL 时金光红的斑点可见, 当点样量为 4 μL 时 808 猩红、苏丹红 IV 的斑点可见。因此金光红的薄层检测限确定为 16.08 ng, 808 猩红薄层检测限确定为 22.40 ng, 苏丹红 IV 薄层检测限确定为 12.15 ng。

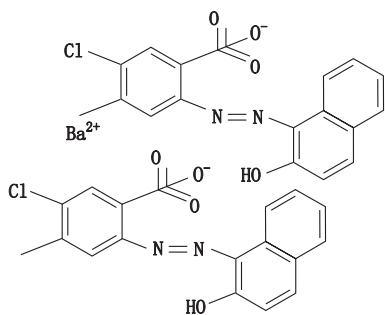
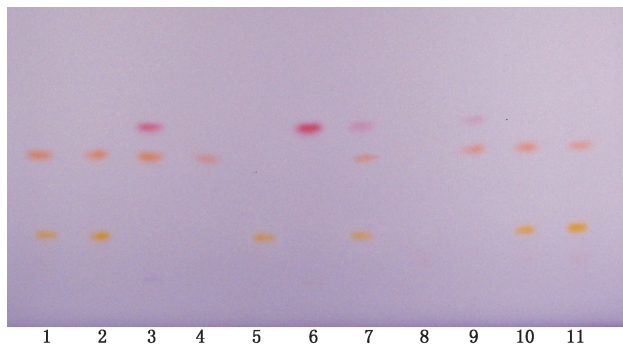


图9 金光红 C 的结构式

Fig. 9 The structural formula of Lake red C

2.2.4 专属性考察

取金光红 C 对照品储备液、808 猩红对照品储备液、苏丹红 IV 对照品储备液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 按上述色谱条件展开 10 cm, 日光下检视, 如图 10 所示。供试品溶液在与金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 的对照品溶液相应的位置上, 有相同颜色的色谱斑点, 而阴性样品溶液在与各对照品溶液相应的位置上, 均无相同颜色的色谱斑点, 说明朱砂阴性样品对金光红 C、808 猩红及苏丹红 IV 的检出无干扰。



1. 样品 1 (sample 1) 2. 样品 2 (sample 2) 3. 样品 3 (sample 3) 4. 808 猩红 (808 scarlet) 5. 金光红 C (lake red C) 6. 苏丹红 IV (sudan IV) 7. 样品 4 (sample 4) 8. 阴性样品 (negative sample) 9. 样品 5 (sample 5) 10. 样品 6 (sample 6) 11. 样品 7 (sample 7)

图 10 对照色素及朱砂样品 TLC 图

Fig. 10 TLC chromatograms of reference substances and cinnabar samples

2.2.5 耐用性考察

分别使用不同来源 (青岛海洋化工分厂, 规格 10 cm \times 20 cm; 天津思利达科技有限公司, 规格 10 cm \times 20 cm; 自制板, 硅胶 G 购自于青岛邦凯高科技材料有限公司, 规格 10 cm \times 20 cm) 的硅胶 G 薄层

板, 改变点样方式 (手动点样和自动点样), 改变温度 (10、20、30 $^{\circ}\text{C}$), 按“2.2.1”项条件进行薄层层析, 日光下检视。结果 3 种不同来源的硅胶 G 薄层板、不同的点样方式及温度的改变对金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 3 种色素色谱斑点分离度无影响, 且各色谱斑点均无拖尾现象, 表明不同来源的硅胶 G 薄层板、点样方式、温度对 808 猩红、金光红 C、苏丹红 IV 的检出结果无影响。

2.2.6 样品的鉴别

取 11 批朱砂样品粉末, 照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下条件进行薄层层析, 记录色谱图。结果见表 1, 部分供试品及对照试剂的薄层色谱图见图 10。

表 1 样品的检测结果

Tab. 1 Determination results of samples

样品编号 (sample No.)	808 猩红 (808 scarlet)	苏丹红 IV (sudan IV)	金光红 C (lake red C)
1	+	-	+
2	+	-	+
3	+	+	-
4	+	+	+
5	+	+	-
6	+	-	+
7	+	-	+
8	+	-	-
9	+	-	-
10	+	-	+
11	+	-	+

注 (note): “+” 检出 (“+” means detected); “-” 未检出 (“-” means not detected)

2.3 金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 的 HPLC-DAD 定性鉴别

2.3.1 色谱条件及系统适应性条件

采用 Welch Ultimate[®] XB-C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 以乙腈 (A)–0.05 mol \cdot L⁻¹ 醋酸铵溶液 (B) 为流动相, 按表 2 进行梯度洗脱, 流速 1 mL \cdot min⁻¹, 采用 Agilent 1200 DAD 检测器, 检测波长 520 nm, 进样体积 10 μL 。在上述色谱条件下, 各成分均达到基线分离, 各成分的理论塔板数均大于 2000。

表 2 梯度洗脱程序

Tab. 2 The gradient elution program

时间 (time)/min	乙腈 (acetonitrile)/%	0.05 mol·L ⁻¹ 醋酸铵溶液 (0.05 mol·L ⁻¹ ammonium acetate)/%
0	30	70
10	95	5
30	95	5

2.3.2 溶液的制备

精密称取金光红 C 对照品、808 猩红对照品、苏丹红 IV 的对照品,加 *N,N*-二甲基甲酰胺制成每 1 mL 含 5 μg 的混合对照品溶液;称取朱砂药材约 0.5 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 *N,N*-二甲基甲酰胺 20 mL,称量,超声(500 W, 40 kHz)处理 20 min,放冷,再称量,用 *N,N*-二甲基甲酰胺补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。另取朱砂阴性样品,同法制备阴性样品溶液。

2.3.3 专属性考察

精密吸取混合对照品溶液,供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL,在上述色谱条件下,分别注入色谱仪,得相应的色谱图,见图 11。供试品在与 808 猩红,金光红 C 及苏丹红 IV 对照品相应的位置上,有相同保留时间的色谱峰,而阴性样品在与 808 猩红,金光红 C 及苏丹红 IV 对照品相应位置上无色谱峰,说明阴性样品对 808 猩红,金光红 C 及苏丹红 IV 的检出无干扰。

2.3.4 检测限考察

对“2.3.2”项下混合对照品逐级稀释,按“2.3.1”项下色谱条件进行测定,得出 808 猩红、苏丹红 IV 及金光红 C 的检测限(*S/N*=3:1)分别为 0.047、0.039 和 0.035 mg·kg⁻¹。

2.3.5 耐用性考察

分别考察 Welch Ultimate® XB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm; 填料: 十大烷基硅烷键合硅胶; 月旭材料科技上海有限公司), DIKMA PLATISIL™ ODS(4.6 mm×250 mm, 5 μm; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; 北京迪科马科技有限公司), Agilent Eclipse plus C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; Agilent 公司) 3 种色谱柱, 色谱柱温度(30±5)℃, 检测波长(520±10)nm, 流动相流速(1.0±0.2)

mL·min⁻¹ 及流动相配比变化 5%, 测定同一供试品溶液, 结果 3 种类型色谱柱及色谱柱温度、检测波长、流动相比例、流动相流速、流动相配比有小的变动时, 对于金光红 C、808 猩红以及苏丹红 IV 的检测结果无显著影响。

2.3.6 样品的测定

取朱砂样品 11 批次, 按“2.3.2”项下方法制成供试品溶液; 精密吸取混合对照品溶液及供试品溶液各 10 μL, 按“2.3.1”项下色谱条件进行检测, 检测结果见表 1, 部分供试品色谱图见图 11。

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

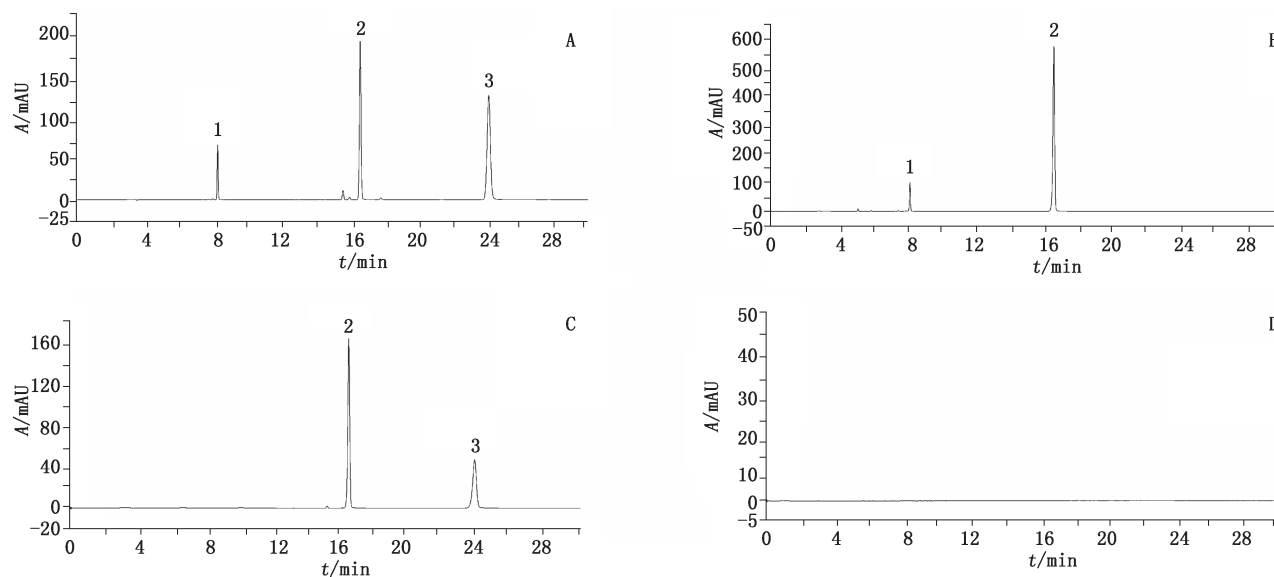
通过查阅文献^[12]发现金光红 C 性质稳定, 溶解性差, 本实验选择了甲醇、无水乙醇、乙腈、甲醇-乙腈(1:1)、二甲亚砜、四氢呋喃、*N,N*-二甲基甲酰胺 7 种溶剂, 对金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 的提取溶剂进行了考察; 结果表明, 甲醇、无水乙醇、乙腈、甲醇-乙腈(1:1)、二甲亚砜、四氢呋喃对金光红 C 的提取率均较低, 而 *N,N*-二甲基甲酰胺对金光红 C 的提取率较高, 同时发现 *N,N*-二甲基甲酰胺对 808 猩红、苏丹红 IV 的提取率均高于其他 6 种提取溶剂; 最终选择 *N,N*-二甲基甲酰胺为金光红 C、808 猩红、苏丹红 IV 的提取溶剂。

3.2 检测波长的选择

分别对金光红 C、808 猩红及苏丹红 IV 的对照品溶液进行紫外波长扫描, 发现 808 猩红在 484 nm 处具有最大吸收, 而金光红 C 和苏丹红 IV 在 520 nm 处具有最大吸收, 参照国家食品药品监督管理局已颁布血竭补充检验方法中苏丹红 IV 和 808 猩红检测波长, 综合考虑, 最终选取 520 nm 为检测波长。

3.3 朱砂样品检测

本实验利用 HPLC-MS 联用的方法在收集的疑似添加色素的朱砂样品中检测出添加的色素金光红 C, 并对本课题组前期分别购买于成都荷花池、安徽亳州、广西玉林、桂林市场、河北安国专业药材市场购买的疑似添加色素的 7 批朱砂样品和购于不同生产企业的 4 批朱砂药材及饮片样品进行了添加色素的筛查, 结果 11 批均检出有 808 猩红, 7 批均检出金光红 C, 3 批检出苏丹红 IV。由于本课题收集样品较少, 不能充分说明市场上朱砂、辰砂样品染色问题, 因此在后续实验中有必要对市售朱砂、辰砂样品进一步研究鉴别。



1. 金光红 C (lake red C) 2. 808 猩红 (808 scarlet) 3. 苏丹红 IV (sudan IV)

A. 对照品 (standard) B. 样品 1 (sample 1) C. 样品 3 (sample 3) D. 阴性样品 (negative sample)

图 11 对照品、阴性样品及样品 HPLC 图谱;

Fig. 11 HPLC chromatograms of reference substances, negative sample and cinnabar sample

本文确定的 3 种色素金光红 C、808 猩红和苏丹红 IV 均为偶氮类色素,其多含有 R-N=N-R' 键和其他芳香环或其衍生物的结构,越来越多的研究证明一些肿瘤疾病与细胞中染色体变异有关,而摄入有机毒素是导致染色体变异的常见化学诱因,而偶氮类色素体内代谢物苯胺和萘胺也分别被列为三级致癌物和一级致癌物^[7]。808 猩红已被补充检验方法所记载,用于控制朱砂染色掺假行为,除朱砂外亦被不法商人用于其他中药品种的染色^[15],在本试验中发现所有样品均使用其进行掺伪染色,说明即使已出台相关检测技术监管,朱砂掺染 808 猩红现象仍旧泛滥。更重要的是,此次 8 批样品均同时染有 2 种色素,说明市场上朱砂染色掺假现象普遍,此类现象在本课题组研究的其他药材中亦有发生。此前朱砂中染有苏丹红 IV 的行为尚未见报道,金光红 C 虽在朱砂染色中已有报道^[12],但未有检测方法的研究报道。本课题组将对以上 3 种色素在朱砂中的染色情况做了进一步研究,并建立了朱砂中非法添加色素金光红 C、808 猩红及苏丹红 IV 的 HPLC-Q-TOF/MS 快速筛查方法和基于 TLC 和 HPLC 的通用检测方法,为朱砂药材的质量控制提供一定的科学依据。

参考文献

- [1] 中国药典 2015 年版.一部[S]. 2015: 137
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 137
- [2] 陈萍,魏少阳,朱胤龙,等. 朱砂中 HgS 含量、形态和晶形研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 116
CHEN P, WEI SY, ZHU YL, *et al.* Study on HgS content, species and crystal construction of cinnabar[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 18(6): 116
- [3] 梁爱华,王金华,薛宝云,等. 朱砂对大鼠的肝肾毒性研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 312
LIANG AH, WANG JH, XUE BY, *et al.* Study on hepatotoxicity and nephrotoxicity of cinnabar in rats[J]. *China J Chin Mater Med*, 2009, 34(3): 312
- [4] 陆远富,时京珍,石京山,等. 科学评价含雄黄朱砂中成药的安全性[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(24): 3402
LU YF, SHI JZ, SHI JS, *et al.* Safety evaluation of realgar and cinnabar-containing traditional Chinese medicine[J]. *China J Chin Mater Med*, 2011, 36(24): 3402
- [5] 李超英,滕利荣,魏秀德,等. 朱砂水飞炮制工艺及质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1806
LI CY, TENG LR, WEI XD, *et al.* Study on processing and quality standard of vermilion cinnabar [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2008, 30(12): 1806
- [6] 张春辉,傅超,陈安珍. 跌打丸中非法染色剂 808 猩红的检测[J]. 中国药事, 2015, 29(10): 1069
ZHANG CH, FU C, CHEN AZ. Detection of illegally added 808 scarlet in Dieda pills[J]. *Chin Pharm Aff*, 2015, 29(10): 1069

- [7] 薛虎寅,尹永梅,张太昌,等. 偶氮类合成色素检测技术的研究进展[J]. 生物技术进展, 2012, 2(3): 171
XUE HY, YIN YM, ZHANG TC, *et al.* Research on analysis of azo dyes in food products [J]. *Curr Biotechnol*, 2012, 2(3): 171
- [8] 秦菲. 食品中苏丹红的毒性及检测方法[J]. 北京联合大学学报, 2008, 22(2): 50
QIN F. Toxicity and analytical methods of sudan dyes in food [J]. *J Beijing Union Univ*, 2008, 22(2): 50
- [9] 王炫,沈昶. 偶氮染料-苏丹红[J]. 化学教育, 2005(5): 1
WANG X, SHEN Q. Azo-dyes-sudan red [J]. *Chem Educ*, 2005(5): 1
- [10] 钱疆,杨方,陈驰. 超高效液相色谱飞行时间质谱测定食品中 36 种合成色素[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 215
QIAN J, YANG F, CHEN C. Determination of 36 kinds of synthetic pigment in food by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Food Sci*, 2013, 34(6): 215
- [11] 于红伟,曲青. 液相色谱-质谱法测定辣椒制品中苏丹红 (I 、 II 、 III 、 IV) 染料[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 27(2): 274
YU HW, QU Q. Determination of sudan red (I , II , III , IV) in Chili by HPLC-MS [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 27(2): 274
- [12] 吴萌,饶伟文. 7 批水飞朱砂伪品的鉴定[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, (27): 97
WU M, RAO WW. Identification of 7 batches of levigated falsified cinnabar [J]. *J Hunan Univ Chin Med*, 2007, (27): 97
- [13] 田富饶,杨委,杨兰花,等. 高效液相色谱法检测化妆品中着色剂罗丹明 B、金光红 C 和染料红 57 [J]. 化学分析计量, 2012, 21(6): 36
TIAN FR, YANG W, YANG LH, *et al.* Detection of rhodamine B, lake red C and litholrubin BCA [J]. *Chem Anal Meas*, 2012, 21(6): 36
- [14] SCHUMMER C, SASSEL J, BONENBERGER P, *et al.* Low-level detection of sudan I , II , III and IV in spices and chili-containing foodstuffs using UPLC-ESI-MS/MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(9): 2284
- [15] 黄宝斌,许明哲,杨青云,等. 中成药和中药材添加化学物质补充检验方法分析[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(9): 1701
HUANG BB, XU MZ, YANG QY, *et al.* Review of the approved supplementary testing methods and items on identifying adulterated chemical substances in traditional Chinese medicine preparations and herbal medicines [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(9): 1701
(本文于 2016 年 7 月 17 日收到)