

中药材及中药饮片中金胺O检测

1 前言

金胺 O 是一种化学染色剂，为黄色均匀粉状物，溶于冷水，易溶于热水呈亮黄色，溶于乙醇呈黄色。主要用于麻、纸、皮革、草编织品、人造丝等的染色，也用于印染棉织品。但有不法商贩为谋取利益，用其改善食品、中药材等的外观。曾发现被用于劣质黄柏、蒲黄、延胡索等中药材、中药饮片的非法染色。

金胺 O 对皮肤黏膜有轻度刺激，可引起结膜炎、皮炎和上呼吸道刺激症状，长期过量食用，将对人体肾脏、肝脏造成损害甚至致癌，卫生部于 2008 年将其列为非食用物质，在中药材、中药饮片和中成药中均不得检出。

2012 年 9 月 8 日，国家食品药品监督管理局发布通告称，在中国重要的中药材产区和主要集散地安徽有 12 家企业涉嫌用化工色素金胺 O 对中药材进行染色。

近期，食品药品监管总局在全国范围内组织对黄柏、延胡索等中药材及中药饮片进行了专项监督抽验，分别从药品生产、经营和使用环节进行了抽样，在 9 批中药材及中药饮片中检出金胺 O。国家食品药品监督管理总局 10 月 23 日发布了关于 9 批中药材及中药饮片检出金胺 O 的通告（2015 年第 78 号）。

按照《中药材及中药饮片药品检验补充检验方法和检验项目批准件》食药监稽函[2012]200号文件中金胺O检测方法，使用大连依利特分析仪器有限公司配置 DAD230⁺二极管阵列检测器的高效液相色谱仪可以分析检测中药材和中药饮片中的金胺O，系统稳定重复，线性相关性良好，检出限低，通过光谱图比对、峰纯度计算功能，能够准确定性，避免假阳性现象，满足药监部门制定的标准要求。

2 仪器设备与试剂

表1 中药材中金胺O检测HPLC系统标准配置

序号	名称	数量	订货号
1	DAD230 ⁺ 二极管阵列检测器	1台	512阵列, 31020006 1024阵列, 31020007
2	P230高压恒流泵	1台(或2台)	31010003
3	7725i手动进样阀	1个	32027725i
4	EC2000 DAD色谱数据处理工作站(V3.30)	1套	
5	EC2000单通道色谱数据处理工作站(选配)	1套	31030001
6	TD-1-15梯度混合器(选配)	1个	31060001
7	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 $\times$ 250mm	1支	31110006
8	S3100自动进样器(选配)	1台	

表2 中药材中金胺O检测所需化学试剂

序号	试剂	纯度
1	乙腈	色谱纯
2	乙醇	分析纯
3	磷酸二氢钾	分析纯
4	磷酸	分析纯
5	三乙胺	分析纯

表3 中药材中金胺O分析样品前处理设备

序号	名称
1	超声波清洗器

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶(10mL、50mL)、具塞锥形瓶(50mL)、1.5mL塑料离心管、一次性注射器(1mL)、针筒式滤膜(0.45 μ m)、进样针、一次性PVC手套、一次性口罩等。

3 实验方法

《中药材及中药饮片药品检验补充检验方法和检验项目批准件》，食药监稽函【2012】200号文件。

3.1 样品前处理

取药材粉末样品2.0g于50mL具塞锥形瓶中，加70%乙醇/水20 mL，超声提取20min，0.45 μ m滤膜过滤，取滤液进样分析。

3.3 色谱条件

流动相：乙腈:0.025mol/L磷酸二氢钾溶液（含0.2%三乙胺，磷酸调pH值3.0）=35:65

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 5 μ m, 4.6 $\times$ 250mm

流量：1.0mL/min

检测：432nm (DAD)

进样体积：10 μ L

柱温：室温

4 实验结果

4.1 典型分析谱图

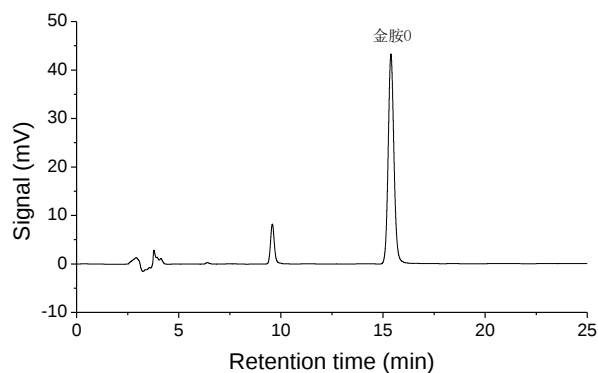


图 1 金胺 O 标准品（30 μ g/mL）谱图

提取色谱图波长：432nm

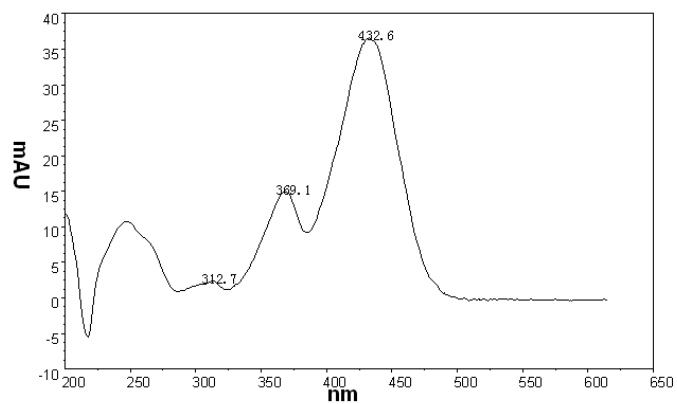


图 2 金胺 O 吸收光谱图

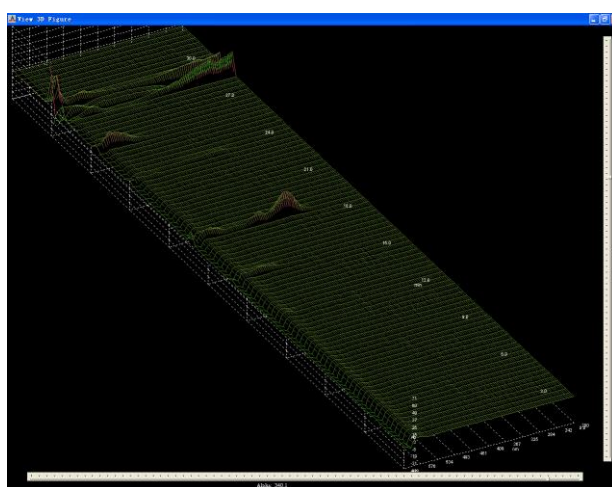


图 3 金胺 O 色谱光谱三维谱图

表4 金胺O标准品分析色谱峰参数（432nm）

名称	保留时间(min)	峰面积(mV.sec)	拖尾因子	塔板数 (N)	压力(MPa)
金胺O	15.3867	829.59	1.11	15900	12.9

4.2 重复性

连续进样5次，计算金胺O色谱峰保留时间和峰面积的RSD值，均小于1%。

表5 连续进样重复性结果(n=5)

进样次数	保留时间 (min)	峰面积 (Mv.sec)
1	15.3867	829.59
2	15.3550	843.13
3	15.2200	828.98

4	15.2700	823.03
5	15.2950	826.51
RSD(%)	0.47%	0.92%

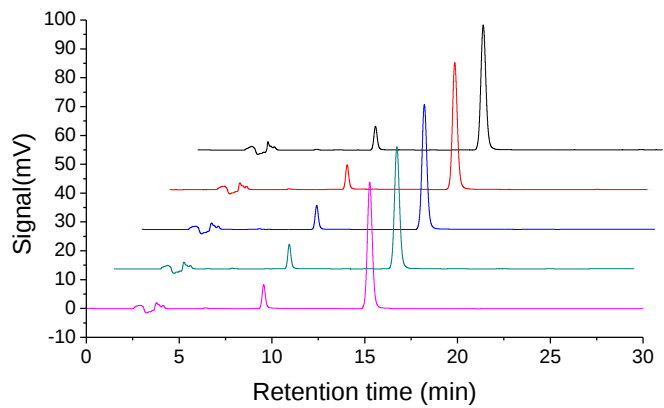


图4 金胺O标准品连续进样叠加色谱图（432nm，n=5）

4.3 线性

配制浓度分别为0.75μg/mL、3.0μg/mL、7.5μg/mL、15.0μg/mL、30.0μg/mL的金胺O标准工作溶液，按浓度由低至高进样，以标准品浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。结果显示，金胺O线性相关系数达0.9999(表6、图5)。

表 6 不同浓度金胺 O 标准溶液对应峰面积数据（432nm）

序号	浓度（μg/mL）	峰面积（mV.sec）
1	0.75	19.7
2	3.0	73.77
3	7.5	191.8
4	15.0	399.38
5	30.0	784.58

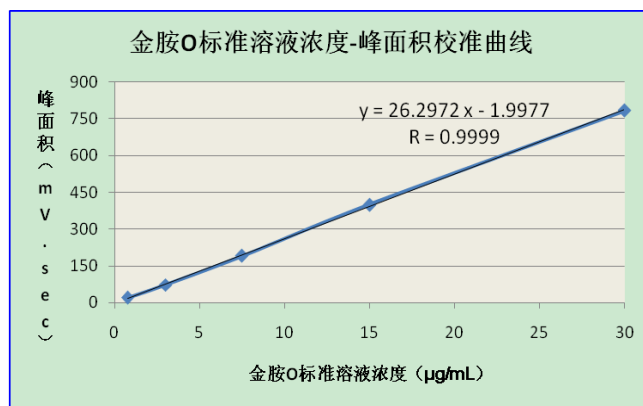


图5 金胺 O 标准溶液浓度-峰面积校准曲线

4.4 检出限

以峰高约为3倍信噪比对应浓度为仪器检出限，以10倍信噪比计算仪器定量限，噪声按 0.05mV 计算，金胺 O 仪器/方法理论检出限、定量限结果如下。

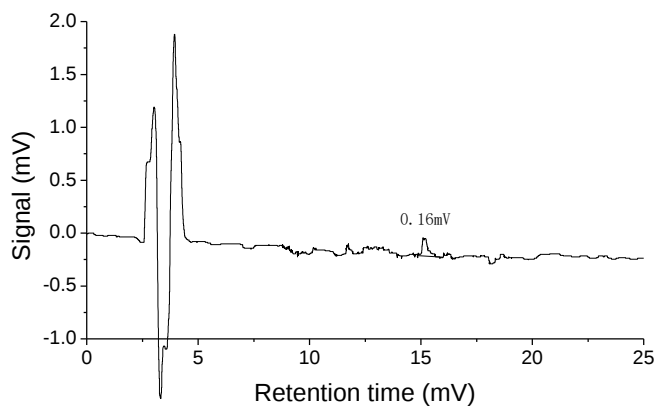


图6 仪器最低检出限色谱图（0.1μg/mL，432nm）

表7 金胺 O 仪器/方法理论检出限、定量限

名称	仪器检出限 (μg/mL)	仪器定量限 (μg/mL)	方法检出限 (μg/g)	方法定量限 (μg/g)
金胺 O	0.1	0.33	1.0	3.3

4.5 实际样品分析

以下中药材实际样品谱图均为 DAD 数据中提取 432nm 处色谱图。

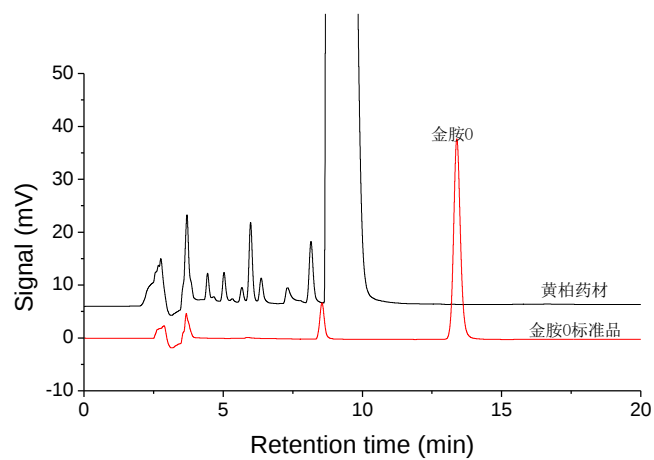


图 7 黄柏药材和金胺 O 标准品叠加色谱图

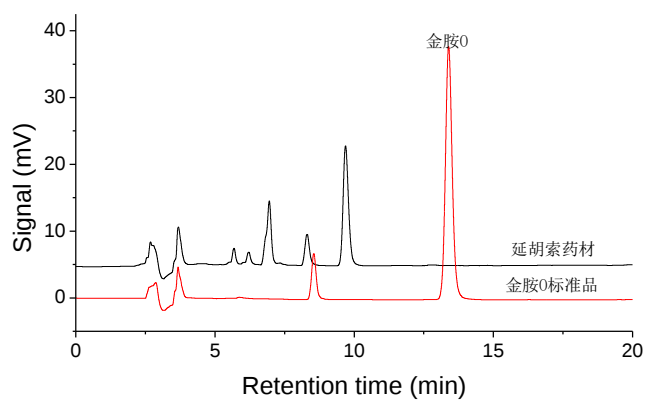


图 8 延胡索药材和金胺 O 标准品叠加色谱图

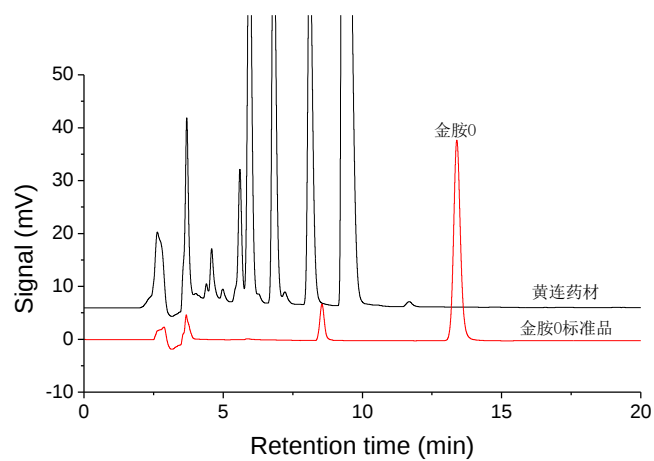


图 9 黄连药材和金胺 O 标准品叠加色谱图

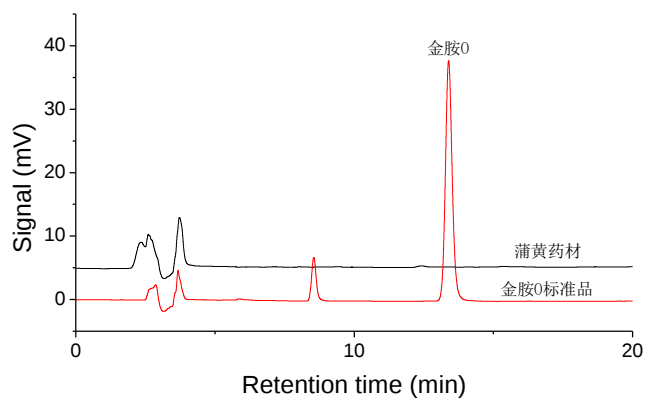


图 10 蒲黄药材和金胺 O 标准品叠加色谱图

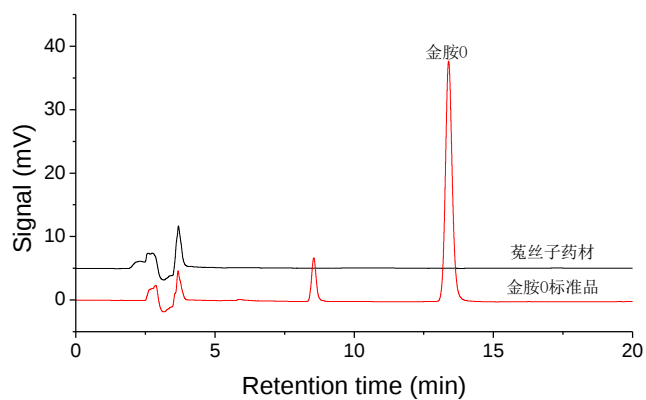


图 11 菟丝子药材和金胺 O 标准品叠加色谱图

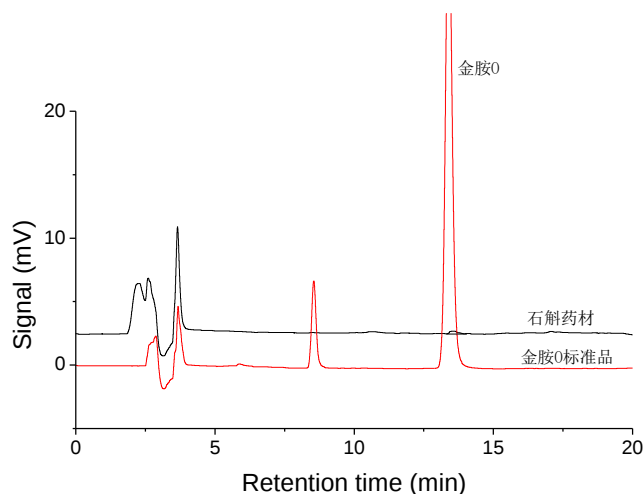


图 12 石斛饮片和金胺 O 标准品叠加色谱图

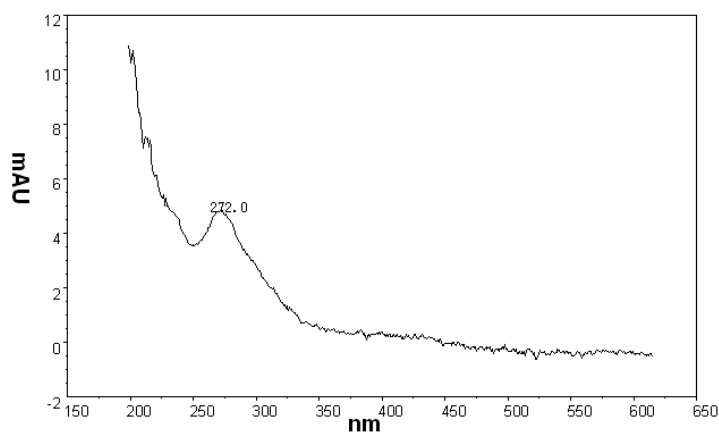


图 13 石斛饮片分析色谱图中与金胺 O 保留时间接近色谱峰的光谱图

上述结果显示，黄柏、延胡索、黄连、蒲黄、菟丝子的分析谱图中，与金胺 O 标准品保留时间一致处，均无色谱峰，说明该 5 种药材中不含有金胺 O。石斛分析谱图与金胺 O 标准品保留时间一致处，有一个色谱峰（峰高 0.19mV），提取该色谱峰光谱图（图 13），与金胺 O 光谱图不一致，说明该色谱峰不是金胺 O。

5 结论

参考《中药材及中药饮片药品检验补充检验方法和检验项目批准件》（食药监稽函[2012]200号文件），使用DAD230⁺二极管阵列检测器分析中药材中的金胺O，连续5次进样，保留时间和峰面积RSD值分别为0.47%和0.92%，说明系统稳定性良好。金胺O标准品在0.75~30.0μg/mL范围内具有良好的线性相关性，线性相关系数

(R) 为0.9999。仪器检出限和定量限分别为0.1 $\mu\text{g/mL}$ 和0.33 $\mu\text{g/mL}$ ，方法检出限和定量限分别为1.0 $\mu\text{g/g}$ 和3.3 $\mu\text{g/g}$ 。

使用DAD230⁺二极管阵列检测器分析中药材及饮片中的金胺O，能够满足药监部门制定的标准要求。