

方法开发报告 2015-APP-LC-024

2015 版中国药典色素快速分析 (LC-DAD)

赛默飞世尔科技色谱产品应用中心

检测项目	21 种色素分析				
样品基体	溶液				
仪器型号	Thermo Ultimate 3000: 泵: DGP-3600SD 自动进样器: WPS-3000SL 柱温箱: TCC-3000RS 检测器: DAD-3000				
分析柱	Accucore aQ, 2.6μm 2.1×150mm (PN: 17326-152130)				
流动相	1. 15 种水溶性色素测定 流动相 A: 醋酸铵 20mM; 流动相 B: 乙腈 流速: 0.75 mL/min				
	时间 min	A%	B%	曲线	
	0	99	1	5	
	0.3	99	1	5	
	8	65	35	3	
	12	55	45	7	
	12.1	25	75	5	
	16	25	75	5	
	16.1	99	1	5	
	24	99	1	5	
	2. 6 种脂溶性色素测定 流动相 A: 0.1% 甲酸; 流动相 B: 甲醇 流速: 0.55 mL/min				
	时间 min	A%	B%	曲线	
	0	24	76	5	
	0.5	24	76	5	
	10.1	5	95	5	
	14	5	95	5	
	14.1	24	76	5	
	20	24	76	5	
	柱 温	40 °C			

进样量	5 μ L, 2uL
波长	全扫描

1、前言

色素一般分为天然色素和人工合成色素。药品生产中色素的使用应符合国家药品管理部门的有关规定。中药材和中药饮片不应使用色素，如测定苏丹红 I 等脂溶性色素时，以甲醇为流动相 A，0.1%甲酸溶液为流动相 B，梯度洗脱 20 分钟；测定孔雀石绿等偏碱性水溶性色素时，梯度洗脱 32 分钟；测定金橙 II 等偏酸性水溶性色素时，以甲醇为流动相 A，20mmol/L 乙酸铵为流动相 B，梯度洗脱 32 分钟。多种色素测定时可适当采用流动相梯度洗脱，可根据情况选择小粒径或柱长较长的色谱柱以提高分离度。——《中国药典》2015 年版。

2、样品制备

15 种水溶性色素测定：

称取苋菜红、赤藓红、柠檬黄、亮蓝、日落黄、亮蓝 G、橙黄 I、酸性黑 I、酸性橙 10、酸性红 18、金胺 O、孔雀石绿、亮黄、金橙 II、罗丹明 B 对照品，用水溶解并稀释制成 0.1 mg/mL 的溶液作为对照液（赤藓红 8.8 μ g/mL，金橙 II 25 μ g/mL，罗丹明 B 53 μ g/mL）；各取 100 μ L 混合作为混标对照液。

6 种脂溶性色素测定：

称取苏丹红 1，苏丹红 2，苏丹红 3，苏丹红 4，苏丹红 G，猩红 808 对照品，加乙腈-氯仿（2:1）溶解并稀释制成 0.1 mg/mL 溶液作为对照液。各取 200 μ L 混合并稀释到 4mL 作为混标对照液。

红花水提样品测定：

取红花 300g，用水超声加热提取 1 小时。经离心、过滤等前处理操作得红花供试液。

“辣条”样品测定：

取某品牌“辣条”，乙腈-氯仿（2:1）萃取，经离心、过滤等前处理操作得“辣条”供试液。

3、测定谱图

（1）15 种水溶性色素混标对照液测定谱图

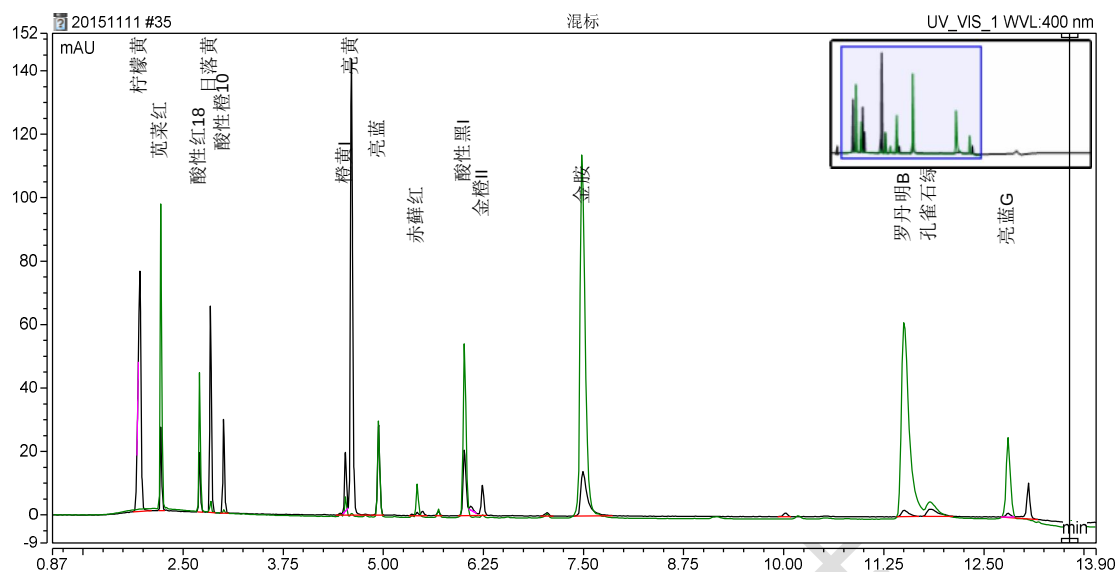


图1 15种水溶性色素混标对照液谱图

(2) 红花水提样品谱图

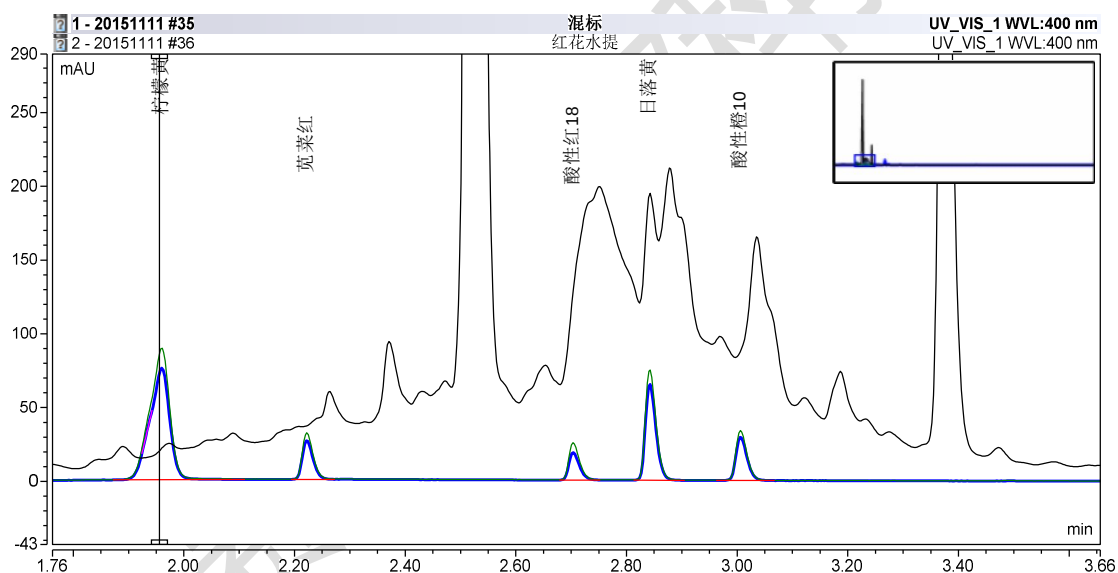
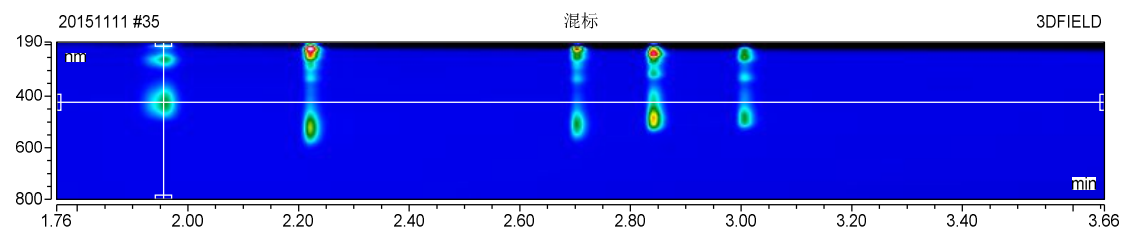


图2 红花水提样与水溶色素混标叠图 (427nm)



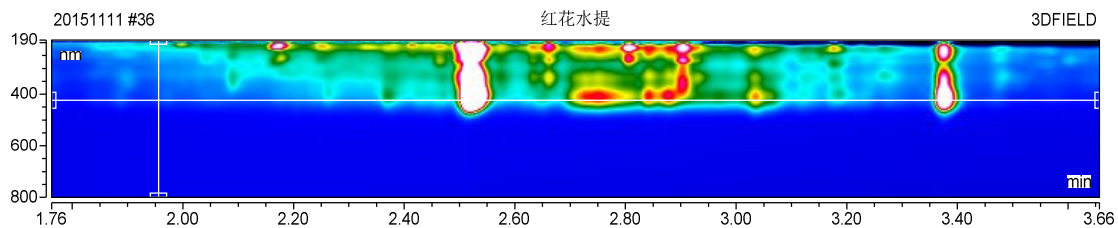


图3 红花水提样与水溶性色素混标叠图的3D谱图(427nm)

(3) 6种脂溶性色素混标对照液测定谱图

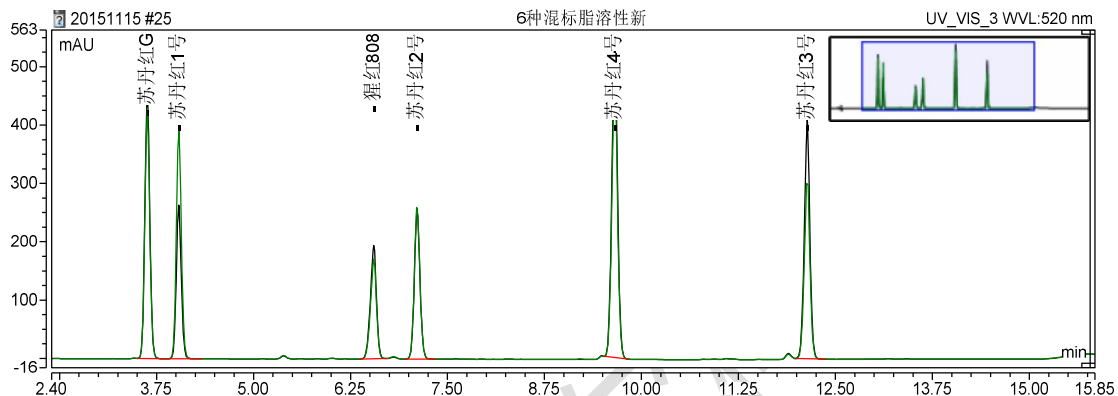


图4 6种脂溶性色素混标对照液测定谱图

(4) “辣条”样品测试谱图

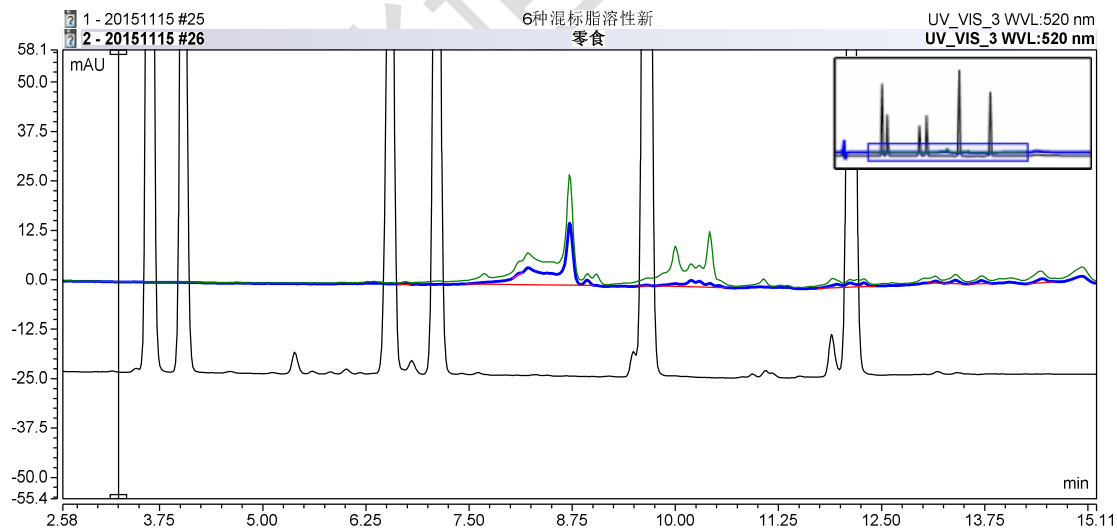
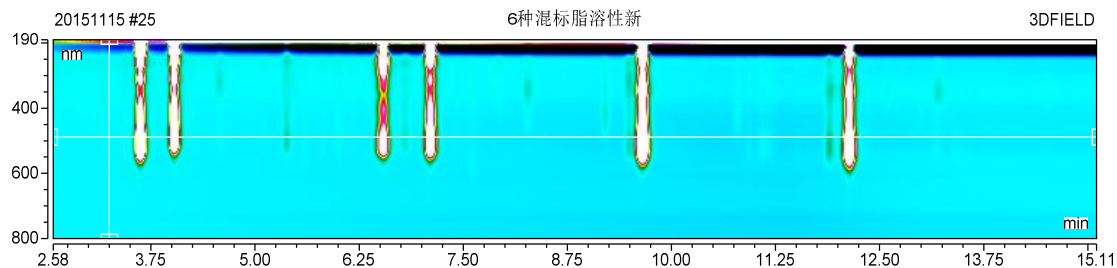


图5 “辣条”样品与脂溶性色素混标叠图(520nm)



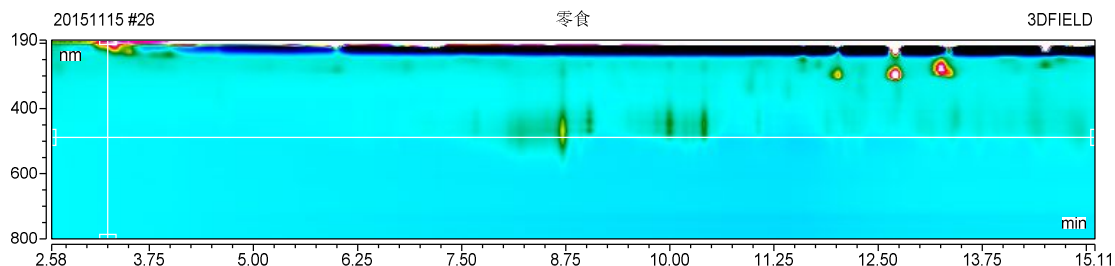


图6 “辣条”样品与脂溶色素混标叠图的3D谱图(520nm)

4、结果与讨论

15种水溶性色素在2.6 μ m小粒径色谱柱上可以得到很好的分离,红花水提样品3D光谱图中几乎看不到427nm以上的吸收,可见无色素添加。6种脂溶性色素在2.6 μ m小粒径色谱柱上可以得到很好的分离,“辣条”样品3D光谱图中几乎看不到520nm以上的吸收,可以无色素添加。

根据2015版药典色素分析指导原则,需要将色素分成碱性水溶、酸性水溶、脂溶三组来做实验,而且每一组的分析时间都较长,若再加上每针进样平衡时间,总分析时间就更长了;而采用小粒径填料色谱柱分析色素,借助色谱柱的高效性将水溶性色素一起分析,无需分开成酸碱两组,取得良好的分析效果,简化了分析方法,分析用时仅仅12分钟,提高了效率。

5、附录21个色素UV-VIS光谱图190~800nm

