

- Guangxi [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(4): 395-398.
- [4] XU Y C, ZHOU L Y, ZHANG J H. Phenological analysis upon yield and quality of Lonicerae Flos [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2002, 25(8): 539-541.
- [5] XU G J, SUI J T. The optimal collection season of Lonicerae Flos determined by HPLC [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医学), 2002, 26(11): 866.

- [6] ZHANG X H, LIU J J, LIU F L. A comparison investigation on the honeysuckles of different periods [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2003, 17(3): 13-14.
- [7] LIU Y G, LU J Q, GAO X Y, et al. Phenolic components and their contents in Lonicerae Flos of different periods by HPLC-MSⁿ analysis [J]. Pharm West China(西部药学), 2006, 3(3): 175-176.

收稿日期: 2012-11-05

SPE-HPLC 测定小儿氨酚黄那敏颗粒中 4 种合成色素

张西如, 赵江丽, 姜建国, 韩彬(河北省食品药品检验院, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立小儿氨酚黄那敏颗粒剂中合成色素的 SPE-HPLC 测定方法。方法 使用 SPE 固相萃取柱对合成着色剂进行净化、富集; 采用 HPLC 测定含量。色谱柱为 Inertsil ODS-3 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 以甲醇-0.02 mol·L⁻¹ 乙酸钠溶液为流动相, 梯度洗脱; 检测波长为各自的吸收最大吸收波长(柠檬黄 428 nm, 日落黄 521 nm, 胭脂红 509 nm, 苋菜红 483 nm); 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL; 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果 柠檬黄、日落黄、苋菜红和胭脂红在 0.05~4 μg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系($r \geq 0.999\ 5$), 平均回收率分别为 98.0%, 97.9%, 98.6%和 99.5%, RSD 均 < 0.9%。结论 该法操作简便、准确、重复性好, 可用于同时测定小儿氨酚黄那敏颗粒中的 4 中合成色素。

关键词: 合成色素; 高效液相色谱法; 固相萃取

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1113-04

Simultaneous Determination of 4 Synthetic Colors in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate Granules by SPE-HPLC

ZHANG Xiru, ZHAO Jiangli, JIANG Jianguo, HAN Bin(Hebei Institute for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a solid-phase extraction (SPE)-high performance liquid chromatographic(HPLC) method for the simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow, ponceau 4RC and amaranth in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate granules. **METHODS** The granule sample was dissolved in water, and the solution was purified and enriched by a polyamide SPE column. The eluate obtained was analyzed by HPLC method with Inertsil ODS-3 C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm), methanol-0.02 mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution as mobile phase with gradient elution. For quantitative analysis, the detection was performed at the maximum absorption of the synthetic colors, they were 428 nm(tartrazine), 521 nm (sunset yellow), 509 nm (ponceau 4RC) and 483 nm (amaranth). The column temperature was 30 ℃ and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** The linear ranges of tartrazine, sunset yellow, ponceau 4RC and amaranth were 0.05~4 μg·mL⁻¹($r \geq 0.999\ 5$). The average recoveries were 98.0%(RSD=0.52%), 97.9%(RSD=0.38%), 98.6%(RSD=0.27%) and 99.5% (RSD=0.43%), respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, and reproducible, can be used for the quality control of 4 synthetic colors in Child Paracetamol, Artificial Cow-bezoar and Chlorphena Mine Maleate granules.

KEY WORDS: synthetic colors; HPLC; solid-phase extraction(SPE)

合成色素是广泛使用的药用辅料, 硬胶囊壳、糖衣片和薄膜衣片、颗粒剂等都会适量添加以增加外观的美观性, 尤其是儿童用颗粒剂, 需用水溶解后服用。合成色素的鲜艳色泽还可以增加儿童服药的主动性。但合成色素是以苯、甲苯、萘

等化工产品为原料化学合成的^[1], 许多合成色素在生物体内可以转化成有害的衍生物^[2-3], 如致癌性物质α-氨基萘酚、β-萘胺^[4]。因此, 世界各国对合成色素的可用品种、适用范围和使用量均有严格的规定^[3]。药品中添加的色素多为水溶性, 而水溶

性色素耐光、热等稳定性差,产品易褪色^[5],为保证产品色泽往往会增大色素的添加量,所以有必要监测色素的使用情况,以保证药品在生产和使用过程中的质量和安全性。本研究建立小儿氨酚黄那敏颗粒剂中4种合成色素的SPE-HPLC含量测定方法,并对市场上小儿氨酚黄那敏颗粒剂中合成色素的使用情况进行了考察。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

日本岛津高效液相色谱系统:LC-20AT型输液泵,SPD-M20A二极管阵列检测器,SIL20A自动进样器,CTO-20A柱温箱,LC-solution工作站;CP225D电子天平(德国Sartorius);固相萃取柱:Clarnet® JXA(1 g:6 mL),临用前依次用2 mL甲醇和6 mL水进行预处理,保持柱体湿润。

1.2 试剂

对照品:柠檬黄(批号:C17138000,含量:90.0%)、日落黄(批号:C17048000,含量:87.0%)、胭脂红(批号:C16284000,含量:70.0%)和苋菜红(批号:C10148500,含量:81.0%)均购自Dr.Ehrenstorfer GmbH。甲醇和醋酸铵为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil ODS-3C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.02 mol·L⁻¹醋酸铵溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 20% A→40% A; 5~12 min, 40% A→92% A; 12~13 min, 92% A→20% A);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测器:二极管阵列检测器;检测波长为各自的吸收最大吸收波长(柠檬黄428 nm,日落黄521 nm,胭脂红509 nm,苋菜红483 nm);柱温30℃;进样量10 μL。色谱图见图1。

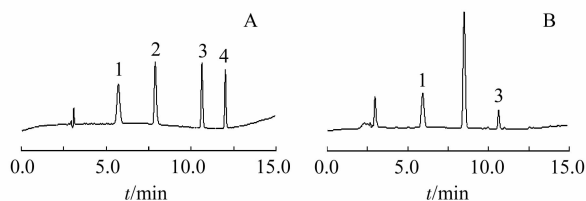


图1 HPLC 色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; 1-柠檬黄; 2-苋菜红; 3-胭脂红; 4-日落黄

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-tartrazine; 2-amaranth; 3-ponceau 4RC; 4-sunset yellow

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取柠檬黄、日落黄、苋菜红和胭脂红对照品适量,用水配制成浓度各为20 μg·mL⁻¹的储备液。分别精密量取储备液适量,用水配制成浓度均为4 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

精密称取颗粒剂2 g,加水10.00 mL溶解,所得溶液上样至预处理过的固相萃取柱中,依次用水(用甲酸调节pH至4)6 mL、甲醇-甲酸(6:4)6 mL、水10 mL,以<2 mL·min⁻¹的流速清洗,弃去全部流出液;用无水乙醇-氨水-水(7:2:1)6 mL洗脱,收集洗脱液至10 mL量瓶中,用乙酸中和,用甲醇-水(4:6)定容至刻度,即得。按“2.1”项下色谱条件进行检验,各待测组分与杂质分离度良好。

2.4 标准曲线绘制

分别精密量取“2.2”项下混合对照品溶液用甲醇-水(4:6)稀释成浓度为0.05, 0.1, 0.3, 1, 2, 4 μg·mL⁻¹的系列标准溶液。精密吸取上述对照品溶液各10 μL分别注入液相色谱仪,进行测定。以峰面积(Y)为纵坐标,相应的对照品浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,4种合成色素的回归方程分别为:柠檬黄 $Y=29\,431.78X-137.040\,7$, $r=0.999\,8$;日落黄 $Y=25\,628.94X-130.935\,3$, $r=0.999\,6$;胭脂红 $Y=23\,100.24X-219.078\,3$, $r=0.999\,7$;苋菜红 $Y=28\,996.13-60.955\,14$, $r=0.999\,6$ 。

结果表明,各成分在0.05~4 μg·mL⁻¹浓度内线性关系良好。

2.5 检出限

取“2.4”项下对照品溶液,用逐级稀释法测定检测限,按 $S/N=3$ 计,检出浓度均约为0.005 μg·mL⁻¹。

2.6 仪器精密度

取1 μg·mL⁻¹的对照品溶液,连续进样6次,计算6次进样峰面积的RSD。4种色素峰面积的RSD均<0.52%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性

取同一供试品溶液,分别在0, 3, 6, 12, 24 h,精密量取10 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果不同时间色谱峰面积基本一致, RSD<0.49%,表明供试品溶液在室温下24 h内稳定。

2.8 重复性

取某一小儿氨酚黄那敏颗粒样品,按“2.3”

项下方法制备供试品溶液 6 份, 注入高效液相色谱仪进行测定, 按外标法计算含量。结果柠檬黄的平均含量为 $5.77 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\text{RSD}=0.5\%$, $n=6$), 胭脂红平均含量为 $2.02 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\text{RSD}=0.7\%$, $n=6$), 表明该方法重复性良好。

2.9 回收率

精密称取色素空白样品 2 g, 分别加入一定浓度的对照品溶液进行模拟回收, 平行操作 3 份, 按“2.3”项下方法进行处理, 精密量取 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery($n=3$)

成分	加入量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/%
柠檬黄	0.61	0.60	98.36	98.0	0.52
	0.51	0.50	98.03		
	0.41	0.40	97.56		
日落黄	0.60	0.59	98.33	97.9	0.38
	0.50	0.49	98.00		
	0.40	0.39	97.50		
胭脂红	0.59	0.58	98.30	98.6	0.27
	0.49	0.49	100.00		
	0.39	0.38	97.43		
苋菜红	0.62	0.61	98.38	99.5	0.43
	0.52	0.52	100.00		
	0.42	0.42	100.00		

2.10 样品测定

样品为 140 个企业生产的 430 批次小儿氨酚黄那敏颗粒剂, 其中有 5 家企业在药品说明书中注明使用了色素。采用上述方法对目标色素的含量进行测定, 结果见表 2。4 家企业的样品检测出柠檬黄, 1 家企业检测出柠檬黄和胭脂红, 其他企业样品均未检出色素, 与企业说明书标注基本一致。但 5 家样品色素检出量差异很大, 以柠檬黄为例, 含量最小的为 $5.77 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最大的为 $84.42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 二者相差近 15 倍。

表 2 颗粒剂中色素的含量

Tab 2 Contents of coloring matter in Granules

企业编号	标注色素	测得色素	测得含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
A	食用色素	柠檬黄	25.17
B	食用色素	柠檬黄	84.42
C	柠檬黄	柠檬黄	5.77
	胭脂红	胭脂红	2.02
D	柠檬黄	柠檬黄	32.57
E	柠檬黄	柠檬黄	0.039

3 讨论

3.1 前处理条件的优化

色素大多极性较强, 易溶于水, 样品用水溶解后可直接进样分析, 但颗粒剂中蔗糖的含量较大, 所得溶液易堵塞色谱柱和液相色谱仪管路。本实验采用聚酰胺固相萃取柱对合成色素进行净化、富集, 以除去蔗糖等杂质。聚酰胺在酸性条件下对酸性成分的吸附性好, 在碱性条件下解吸。将颗粒剂用水溶解后上样至预处理过的聚酰胺小柱中, 然后依次用水(甲酸调节 pH 至 4)和甲醇-甲酸(6:4)洗去碱性和中性杂质成分, 用水冲洗至中性, 再用无水乙醇-氨水-水(7:2:1)将合成色素洗脱下来, 洗脱液用乙酸中和, 定容后可直接注入色谱仪测定, 操作简便, 回收率高。

3.2 色谱条件选择

合成色素常用检测波长为 254 nm, 但不同成分的响应差异较大, 检测的灵敏度较差^[1]。本实验使用二极管阵列检测器, 分别在柠檬黄、日落黄、胭脂红和苋菜红的最大吸收波长处进行检测, 可提高响应值, 从而获得更低的检测限和定量限, 使定量更准确。合成色素极性较大, 在色谱体系中以离子化形式存在, 添加无机电解质可以提高响应值、改善分离度^[6], 本实验采用合成色素测定常用的甲醇-0.02 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵为流动相系统, 通过调整洗脱梯度, 获得了满意的分离度和合理的保留时间。

3.3 样品测定

本次检查的 430 批次颗粒剂, 涉及生产企业 140 家, 其中有 5 家生产企业在药品说明书中注明使用了色素。采用本实验建立的研究方法进行检验, 4 家企业的样品检测出柠檬黄, 1 家检测出柠檬黄和胭脂红, 其他企业样品均未检出色素, 与企业说明书标注基本一致。但 5 家企业样品色素检出量差异很大, 柠檬黄检出量最小的为 $0.039 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最大的为 $84.42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以柠檬黄计), 二者相差甚远。提示药品中色素的使用亟需规范。

REFERENCES

[1] ZHANG J W, WU G P, LI Y B, et al. HPLC determination of amaranth of pharmaceutical supplementary materials [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(8): 1590-1592.

[2] DOWNHAM A, COLLINS P. Colouring our foods in the last and next millennium [J]. Int J Food Sci Technol, 2000, 35(1): 5-22.

[3] GAO Y X, XU Z H. Research progress on the safety of the natural pigments [J]. Food Sci(食品科学), 2005, 26(S1):

- 158-162.
- [4] WANG D Y, YANG X L, LI X Q, et al. HPLC determination of 8 synthetic colorants in canned yellow peach [J]. Phys Test Chem Anal- Part B(理化检验-化学分册), 2010, 46(9): 1034-1036.
- [5] BAO H M, HE J, LI H R. Quantitative determination of edible

- lake in film-coated tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(4): 340-343.
- [6] ASHEN J, FU X, PAN X, et al. HPLC determination of synthetic colorants in meat food [J]. Phys Test Chem Anal-Part B(理化检验-化学分册), 2011, 47(2): 139-143.

收稿日期: 2013-01-07

离子色谱法测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠的含量

杨丽珍¹, 杨伟峰^{1,2}, 石云峰²(1.浙江工业大学化材学院, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要:目的 建立一种离子色谱法准确快速测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中抗氧化剂亚硫酸氢钠含量的方法。方法 采用 AS-11 阴离子分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 对样品进行分离, 以 20 mmol·L⁻¹ 氢氧化钾溶液为淋洗液, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 抑制型电导检测器检测。样品用 0.4% 甲醛溶液稀释后直接进样。结果 NaHSO₃ 线性范围为 4.07~30.51 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 7$; Na₂SO₄ 线性范围为 1.59~159.0 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 8$; NaHSO₃、Na₂SO₄ 样品平均回收率($n=9$) 分别为 98.82%, 98.24%。结论 本方法操作简便、灵敏、稳定、选择性高, 可用于盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠含量的检测。

关键词: 离子色谱; 盐酸阿扎司琼; 亚硫酸氢钠

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1116-04

Determination of Sodium Bisulfite in Azasetron Hydrochloride and Sodium Chloride Injection by Ion Chromatography

YANG Lizhen¹, YANG Weifeng^{1,2}, SHI Yunfeng²(1.College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Insititue for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIE To establish an ion chromatography method for rapid and precise determination of the content of antioxidant sodium bisulfite in azasetron hydrochloride and sodium chlodium injection. **METHODS** The AS-11 anion analytical column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted to separate the samples with the eluent of 20 mmol·L⁻¹ potassium hydroxide. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the suppressed conductivity detector was adopted. Samples were diluted with 0.4% formaldehyde solution followed by direct injection. **RESULTS** This method exhibited excellent regression($r=0.9997$) in the range of 4.07~30.51 μg·mL⁻¹ for NaHSO₃ and regression($r=0.999\ 8$) in the range of 1.59~159.0 μg·mL⁻¹ for Na₂SO₄, the average recovery ($n=9$) was 98.82%, 98.24%, respectively for NaHSO₃ and Na₂SO₄. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, stable and precise, and can be used for the determination of sodium bisulfite in azasetron hydrochloride and sodium chlodium injection.

KEY WORDS: ion chromatography; azasetron hydrochloride; sodium bisulfite

盐酸阿扎司琼氯化钠注射液是一种用于放疗、细胞毒素药物化疗引起的恶心呕吐及手术后患者恶心呕吐的止吐药物, 部分生产企业加入亚硫酸氢钠作为抗氧化剂。与口服不同的是, 静脉给药的亚硫酸盐过敏反应发病快、病情严重。因为口服亚硫酸盐在肠道吸收经门静脉进入肝脏, 被肝内亚硫酸氧化酶氧化成无毒的硫酸盐由尿液排出体外, 静脉给药的亚硫酸盐绕过肝脏解毒环

节直接进入血液循环, 毒性更强。注射剂中亚硫酸盐常用剂量为 0.1%~1.0%^[1], 准确测定出注射剂中亚硫酸盐的含量是控制药品质量, 保证用药安全的一大途径。采用氧化还原法^[2]、分光光度法^[3]、化学发光法^[4]等方法测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中的亚硫酸氢钠含量方法较为烦琐, 空白干扰较大, 需样品量大。文献[5]报道了以碳酸钠、碳酸氢钠混合溶液为淋洗液, 三乙醇胺为稳定剂