

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.03.027

药材和饮片非法染色物检测技术研究进展*

宋德芳, 李 恒[△]

(武汉药品医疗器械检验所, 湖北 武汉 430075)

摘要:目的 为高通量、强专属性、普遍适用性的中药非法染色检测方法研究提供参考。方法 查阅相关文献,综合分析常见中药非法染色品种、非法染色剂及非法染色检测方法。结果 为规避现有非法染色检验方法和标准,药材和饮片非法染色掺伪出现了染色剂种类增多、多种染色剂混合使用的趋势。结论 为了应对复杂的药材和饮片非法染色检测需求,建立高通量、强专属性、普遍适用性的非法染色检测方法非常必要。

关键词:药材;饮片;非法染色;检测技术

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)03-0096-04

Research Progress on Detection Technology of Illegally Dyeing Pigments in Chinese Material Medica and Decoction Pieces

SONG Defang, LI Heng

(Wuhan Institute for Drug and Medical Device Control, Wuhan, Hubei, China 430075)

Abstract: Objective To provide a reference for the research of high-capacity, exclusive, general detecting methods for illegal dyeing of herbal medicines. **Methods** Herbal medicines with high-risk of suffering illegal dyeing, synthetic pigments frequently used in herbal medicines and detecting methods to identify synthetic pigments illegally used in herbal medicines were summarized by referring to the relevant literature. **Results** In order to avoid the existing illegal dyeing inspection methods and standards, there is a trend of increasing the types of synthetic pigments and mixed-use of various synthetic pigments in the illegal dyeing and adulteration of Chinese material medica and decoction pieces. **Conclusion** The research and development of high-capacity, exclusive, general detecting methods is quite necessary to handle with the complicated detection requirements of illegal dyeing of Chinese material medica and decoction pieces.

Key words: Chinese material medica; decoction pieces; illegal dyeing; detection technology

掺伪染色是中药材和饮片存在的主要质量问题之一。不法生产企业为了提高药材的品相,以次充好,以假充真,常对药材进行非法染色,以获取暴利。药材和饮片非法染色剂多为人工合成色素,其中偶氮类人工合成色素具有致癌、致突变毒性。因此,非法染色的假劣药材(饮片)或由其投料生产的中成药可能存在安全隐患。红花、西红花、朱砂、五味子、血竭、蒲黄等易染色品种及由其投料生产的中成药多见中药非法染色,其检测方法主要有光谱法、色谱法、质谱法及各种联用技术,光谱法主要适用于快速检测,色谱法、质谱法主要适用于实验室定性及定量检测。在此,综述了近年来常见中药非法染色品种、非法染色剂及非法染色检测方法,为高通量、强专属性、普适性染色检测方法的研究提供依据。

1 常见染色品种及染色剂

非法染色研究主要集中在红花^[1-4]、西红花^[4-6]、朱砂^[4-7]、血竭^[4,6]、五味子^[8]、丹参^[3,8-9]、大黄^[3,8]、蒲黄^[3-4,10]、延胡索^[3-4,6,11]、关黄柏^[12]、黄连^[4]、菟丝子^[13]、乌梅^[3-4,14]、何首乌^[3]、人工牛黄^[15]等易染色品种及由其投料生产的中

成药,如千金止带丸^[2]、跌打丸^[16]、蛤蚧定喘丸^[17]、天王补心丸^[18]等。常用染色剂有黄色系(金胺O、柠檬黄、日落黄、皂黄、金橙Ⅱ等)、红色系(酸性红73、胭脂红、偶氮玉红、赤藓红、苋菜红、808猩红、苏丹红Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ,新品红等)等合成色素。中药常见染色品种及其常见染色剂见表1。

2 非法染色检测方法

2.1 光谱法

2.1.1 拉曼光谱法

表面增强拉曼光谱术(SERS)在色素快检技术领域有较多的应用。中药染色检测多采用表面喷有银溶胶的薄层板或用浸泡法制备的银胶纸作为SERS的基底,将乙醇或乙醇-水溶液湿润的药材(饮片)按压或擦拭在表面喷有银溶胶的薄层板上或银胶纸上,对按压或擦拭区域进行SERS检测,此方法快速、简单、灵敏、无损,可满足现场快检的需求。张彬彬等^[19]利用薄层色谱-SERS成功检测经金胺O、新品红、柠檬黄和胭脂红4种常见染料染色的西红花药材。李丹等^[20]利用纸基-SERS成

*基金项目:湖北省食品药品监督管理局科研项目[201801016]。

第一作者:宋德芳,女,硕士研究生,中药师,研究方向为中药质量分析,(电子信箱)2074009467@qq.com。

[△]通信作者:李恒,男,硕士研究生,主管药师,研究方向为药品质量分析,(电子信箱)12941574@qq.com。

表 1 中药常见染色品种及常见染色剂

Tab. 1 Synthetic pigments and its varieties frequently used in herbal medicines

常见染色品种	常见染色剂(检出色素)
红花	金胺 O、胭脂红、柠檬黄、金橙 II、日落黄、酸性红 73
西红花	胭脂红、酸性红 73、罗丹明 B、柠檬黄、金胺 O、酸性橙 II、及 808 猩红、日落黄、橙黄 G
朱砂	酸性橙 II、808 猩红、金光红 C、苏丹 IV、胭脂红、苏丹 I、苏丹 II、碱性橙 21、颜料红 531、酸性红 73、偶氮玉红、颜料红 571
血竭	苏丹 I、苏丹 IV、808 猩红
五味子	偶氮玉红
丹参	金橙 II、金胺 O
大黄	金胺 O
蒲黄	金胺 O、柠檬黄、皂黄(酸性黄 36)
延胡索	金胺 O
关黄柏	金胺 O
黄连	金胺 O
菟丝子	柠檬黄
乌梅	亮蓝、亮蓝 G、苋菜红、日落黄
何首乌	亮蓝 G
人工牛黄	金胺 O、金橙 II、胭脂红、皂黄、柠檬黄
千金止带丸	金胺 O
跌打丸	苏丹红 I、苏丹 IV、808 猩红
蛤蚧定喘丸	金胺 O
天王补心丸	808 猩红

功检测经甲基红、碱性品红、金胺 O 和对氨基偶氮苯 4 种常见染料染色的红花药材。张国庆等^[21]采用纸基-SERS 成功检测经低浓度酸性红、赤藓红染色的南五味子。

SERS 法为染色中药材的鉴别及中药材质量监督提供了一种新的快速、可靠的分析方法。润湿剂的浓度、银溶胶的喷洒时间和喷洒量是薄层色谱-SERS 需考察优化的重点;银溶胶的浓缩倍数、银胶纸的 SERS 增强效果及稳定性是纸基-SERS 需考察的因素。

另外,显微聚焦拉曼技术也用于中药染色检测,如李庆等^[22]利用显微拉曼技术快速、无损伤鉴别区分丹参表面染色物,但尚不能确定为哪种染色物质。显微聚焦拉曼技术具有快速、不损伤样品、环境友好的特点,可为中药材特别是贵细中药材染色物的快速、无损伤判断提供参考。

2.1.2 近红外光谱法

近红外光谱(NIRS)技术是近年来用于中药鉴定的光谱分析技术之一,除具有无损、快速的优点外,还可用于定量检测。NIRS 技术多与主成分分析、偏最小二乘回归等分析方法联合使用,以实现非法染色的快速检测。刘攀颜等^[1]的研究显示,NIRS 法鉴别红花与染色红花的结果与性状鉴别和高效液相色谱法鉴别的结果一致,建立的 NIRS 方法可快速、准确地检测出染色红花,且

能测定染料的含量;77 份染色红花中均检出柠檬黄、胭脂红、日落黄,表明购于成都荷花池中药材专业市场的染色红花主要添加了上述染料。

2.2 色谱法

2.2.1 薄层色谱(TLC)法

TLC 法操作简单、快速、成本低,适用于非法染色的快速筛查。中药非法染色薄层色谱筛查,多根据色素的溶解性质采用不同的展开体系。李启艳等^[23]采用 TLC 法快速筛查中药中的 29 种非法添加色素,以石油醚(60~90℃)-丙酮-乙酸乙酯(100:3:4, V/V/V)为展开剂展开脂溶性色素,以乙酸乙酯-正丁醇-乙醇-氨水-水(1:3:3:1:1, V/V/V/V/V)为展开剂展开水溶性色素,在可见光下检视,各色素分离效果较好, R_f 值均在理想范围内。

对于基质复杂、需进行多组分筛查的样品,可采用二次展开,使各个目标色素达到较好的分离。如于亚男等^[9]采用 TLC 法二次展开的同时鉴别丹参中非法添加的 9 种黄色合成色素,结果 10 批丹参样品中有 1 批检出金橙 II,2 批样品检出金胺 O。对于常规染色定性筛查,TLC 法不失为一种经典实用的初筛方法。

2.2.2 液相色谱法

液相色谱法在中药非法染色检测中应用较普遍,通过比较样品和对照品的保留时间、紫外可见吸收光谱的一致性进行判断。样品提取溶剂根据色素的极性和酸碱性质而异,提取溶剂多采用低浓度或高浓度乙醇、70% 甲醇或甲醇、乙腈-甲醇混合溶液、含酸或含碱的甲醇(乙醇或乙腈)溶液,流动相多采用甲醇/乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵溶液。

李启艳等^[5]采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法同时测定-中药材中非法添加的 20 种常用红色及橙色系人工合成色素,于市售西红花、朱砂样品中检出酸性橙 II 及 808 猩红。

胡立立等^[24]建立了同时测定丹参中 9 种黄色合成色素的 HPLC 法,10 批丹参药材中 1 批检出柠檬黄和日落黄,1 批检出金胺 O。

任荣军等^[25]建立了阴离子交换固相萃取-高效液相色谱法快速测定中成药中 10 种合成色素的方法,样品用 70% 乙醇超声提取,经阴离子交换固相萃取去除大部分基质干扰,可用于中成药中苋菜红、胭脂红、诱惑红、赤藓红、酸性红 73、新品红、罗丹明 B、苏丹红 I、808 猩红、苏丹红 IV 10 种合成色素的检测。

此外,超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-DAD)技术的引入,极大地缩短了分析时间,提高了分离效能。罗镭等^[11]采用 UPLC-DAD 法同时测定延胡索和红花中 28 种人工合成色素,2 批延胡索检出金

胺O。与常规HPLC法相比,UPLC法分离效率更高,分析时间更短,溶剂用量更少,且峰型尖锐,理论板数高。

2.2.3 其他

康帅等^[15]将中药传统性状鉴定与体式显微和光学显微技术相结合,鉴定并报道了一种新发现的牛黄伪品,采用HPLC-DAD法和高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)法进行确证。结果表明,牛黄与该伪品在层纹的断面特征及颗粒状团块的显微特征2个方面均有差异。伪品主要以淀粉和色素混合作品而成,掺有金胺O、皂黄、金橙II、柠檬黄、胭脂红5种染色物。

2.3 质谱法及联用技术

2.3.1 基于选择反应监测(SRM)、多反应监测(MRM)模式的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)联用技术

该方法将UPLC的高速、高分离度与串联四级杆质谱的高选择性、高灵敏度相结合,具有通用性强、选择性好、灵敏度高、便捷、省时的优点。

朱日然等^[6]建立了UPLC-MS/MS法,同时测定中药材及饮片中可能添加的29种合成着色剂;采用SRM模式用于定量分析,测定30批市售红花、血竭、朱砂、延胡索等样品,结果血竭中检出苏丹I、苏丹IV,朱砂中检出苏丹I、苏丹II、胭脂红、碱性橙21,藏红花中检出胭脂红、日落黄、橙黄G,延胡索中检出金胺O。

邓欣等^[26]采用基于MRM的正、负离子切换采集模式检测30种人工色素及其中的3对同分异构体,实现了理想的分离和定性定量分析。

徐昱婷等^[27]采用UPLC-电喷雾电离(ESI)-MS/MS多反应监测模式,建立了在4min内快速筛选并确证中药材(饮片)中非法添加的6种水溶性红色素(日落黄、苋菜红、胭脂红、赤藓红、新品红、酸性红73)的通用方法。

此外,药用辅料的非法染色也有报道。赵海云等^[28]建立了药用明胶空心胶囊样品中22种合成色素的超高效液相色谱/三重四级杆质谱定量分析方法,146批次样品中,柠檬黄与亮蓝检出率均较高,有15批次样品检出禁用的合成色素坚牢绿。虽然明胶空心胶囊作为药用辅料可加入着色剂,但目前尚无药用级着色剂的品种、限量要求和相关法定检测标准,应引起重视。

2.3.2 基于一级、二级扫描模式的质谱联用技术

目标化合物的定性鉴定,基于与对照品保留时间窗口(RTW)、特征离子的精确质量和二级碎片(MS²)离子等信息进行比对,该方法高效、准确,适用于一般中药材的非法染色色素快速筛查定性。

胡青等^[29]基于快速液相-四级杆串联高分辨飞行时间质谱(UHPLC-QTOF)技术,建立了中药非法染色的50种色素高通量定性检测方法。脂溶性色素和碱性

色素为正离子采集模式,酸性色素为负离子采集模式。宜采用空白基质加标进行平行对照,以避免假阴性。

苟琰等^[4]对胭脂红等38种已有或可能的染色掺假物质分别依次进行液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)、QTOF分析,结合MassHunterPCDL软件建立数据库,建立了通过软件自动筛选出可疑染色掺假物质的非法染色筛查方法,快速筛查验证了200余批红花、西红花、血竭等20种中药材及饮片的掺假物质,对于各种药材及饮片基本实现通用,有效识别了补充检验方法未收录的染色掺假物质,验证了快速筛查方法的可行性。该质谱数据库有开放性的特点,可不断更新和完善,以应对未来更加复杂的染色行为。

2.3.3 电喷雾高效离子迁移谱法及联用技术

电喷雾高效离子迁移谱法(ESI-HPIMS)通过比较样品与对照品迁移时间的一致性,判断样品中是否有色素的非法染色。李拓等^[30]采用固相萃取-电喷雾高效离子迁移谱法,建立了快速检测红花中柠檬黄、日落黄、金橙II、诱惑红并进行定量测定的方法。焦建东等^[31]采用离子迁移谱技术,建立中药材中金胺O、苋菜红、日落黄非法染色的快速检测方法。

3 小结

中药非法染色色素品种在不断变化,现有补充检验方法已不能完全满足日常监督检查的需求。中药非法染色问题日益突出,主要体现在以下3个方面:1)染色中药品种的多样性。中药材、中药饮片及其由其投料生产的中成药都可能成为非法染色的对象。2)染色剂种类的多样性。市面上中药非法染色剂种类繁多、成分复杂,主要为黄色系、红色系、黑色系等人工合成色素,尤以黄色系、红色系染色剂最常见。3)非法染色手段的复杂性。新的染色剂种类和手段层出不穷,继国家相关检验标准公布后,中药非法染色出现了新的变化,出现规避标准规定色素品种、多种色素配色染色等趋势,给市场监管及日常监督检查带来了极大挑战。

为了应对复杂的中药非法染色检测需求,建立普适性、高通量、灵敏、准确的中药非法染色检测方法非常必要。由于色素极性、酸碱性的不同,难以在一个体系完成分离分析。有专家建议结合近年来染色研究实际经验和大数据,整合、优化资源,建立染色色素数据库,同时按可能添加色素的色系进行分组,建立以TLC法、HPLC法和液质联用法相结合的通用检测方法^[2]。既可提高检测效率,又可避免重复研究造成的资源浪费;同时该数据库可不断更新完善,及时添加新发现的色素,能更好地应对复杂的非法染色手段,为有效打击染色掺伪行为,加强服务监管和保障民生用药安全提供技术支持。

参考文献

- [1] 刘攀颜,陈碧清,袁珊珊,等. 近红外光谱法测定染色红花中常见染料含量[J]. 中国中药杂志,2019,44(8):1537-1544.
- [2] 耿昭,苟琰,周娟,等. 中药材饮片及中成药中染色色素检测现状和通用检测方法的建立[J]. 中国药理学杂志,2019,54(17):1418-1424.
- [3] 张魁,胡青,孙健,等. UPLC/MS/MS法定性定量测定中药材中3类27种合成色素[J]. 世界中医药,2019,14(4):822-827.
- [4] 苟琰,耿昭,张燕飞,等. 液质联用法快速筛查中药材及饮片常见染色掺假物质的方法研究及数据库建立[J]. 药物分析杂志,2017,37(3):461-470.
- [5] 李启艳,朱日然,孙萍,等. HPLC-DAD法检测染红中药材中20种非法添加色素[J]. 医药导报,2015,34(5):655-657.
- [6] 朱日然,韩相宁,张亚楠,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定中药中29种合成着色剂[J]. 药物分析杂志,2018,38(6):1029-1035.
- [7] 丁野,聂平,孙辉,等. 朱砂中添加5种色素的鉴别研究[J]. 中国药事,2018,32(10):1373-1381.
- [8] 李可. Q-orbitrap高分辨质谱检测中药中非法添加的合成色素和补肾壮阳类化学药物[D]. 济南:山东大学,2018.
- [9] 于亚男,胡立立,安宇. 丹参中非法添加9种黄色合成色素薄层色谱鉴别[J]. 亚太传统医药,2017,13(15):15-17.
- [10] 耿昭,张燕飞,苟琰,等. 蒲黄中1种新染色掺假色素的确认及9种橙黄色色素的检测方法研究[J]. 中国药房,2017,28(9):1225-1228.
- [11] 罗镭,董婷,马临科. UPLC-DAD法快速检测延胡索和红花中非法添加的28种合成色素[J]. 中药材,2017,40(11):2546-2550.
- [12] 李运,邱国玉,白贺明,等. 染色关黄柏中金胺O的检测方法研究[J]. 药物分析杂志,2016,36(11):2029-2034.
- [13] 刘潇潇,林秀莲,李华,等. HPLC-结合LC-QQQ/MS快速检测菟丝子中非法添加柠檬黄[J]. 药学研究,2018,37(4):206-209.
- [14] 胡青,林媛,张魁,等. 超高效液相色谱-三重串联四级杆质谱法测定乌梅中19种深色染色色素[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(7):2663-2670.
- [15] 康帅,林芳,穆向荣,等. 牛黄与其一种伪品的鉴别研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2018,20(3):405-412.
- [16] 陈安珍,李新荣,孙磊,等. UPLC-MS/MS法同时检测跌打丸中的6种非法染色物[J]. 药物分析杂志,2015,35(8):1453-1457.
- [17] 罗轶,丘明明,何颂华,等. 蛤蚧定喘丸中十种非法染色物的检测[J]. 中国医药导报,2017,14(15):139-143.
- [18] 张钰祺,易徐航,袁娟丽,等. 天王补心丸中非法染色剂808猩红的检测[J]. 江西中医药,2019,50(7):61-63.
- [19] 张彬彬,史毅,陈辉,等. 薄层色谱-表面增强拉曼光谱法快速检测染色掺伪的西红花[J]. 药学实践杂志,2017,35(3):215-218.
- [20] 李丹,吕狄亚,陈辉,等. 纸基-表面增强拉曼光谱法检测染色掺伪的红花药材[J]. 药物分析杂志,2015,35(8):1466-1470.
- [21] 张国庆,李丹,王科兵. 纸基-表面增强拉曼光谱法快速鉴别染色南五味子药材[J]. 药学实践杂志,2015,33(3):213-216.
- [22] 李庆,孙琳,林亚丽,等. 丹参可疑染色物的快速鉴别区分[J]. 时珍国医国药,2019,30(8):1891-1893.
- [23] 李启艳,权洪远,姜国萍,等. 中药中非法添加色素的薄层色谱快速鉴别法研究[J]. 药学研究,2017,36(1):21-24.
- [24] 胡立立,杨景明,胡爽,等. 高效液相色谱法测定丹参中9种非法添加的合成色素[J]. 锦州医科大学学报,2017,38(3):8-11.
- [25] 任荣军,毛谊平,陶涌,等. 阴离子交换固相萃取-高效液相色谱法快速测定中成药中10种合成色素的方法研究[J]. 临床医药实践,2019,28(2):127-131.
- [26] 邓欣,蒋姪兰,黄芳,等. 亚3微米色谱分离-串联质谱法同时筛查中药材中非法添加的30种人工色素[J]. 分析实验室,2018,37(4):454-460.
- [27] 徐昱婷,张学博,苏静,等. 超高效液相色谱-串联四级杆质谱法测定中药材(饮片)中非法添加6种水溶性红色素通用方法的研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2016,18(5):911-918.
- [28] 赵海云,李玉杰,张冬梅,等. LC-MS/MS定量分析药用明胶空心胶囊中合成色素的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(7):1329-1337.
- [29] 胡青,孙健,于泓,等. 快速液相-四级杆串联高分辨飞行时间质谱定性测定中药中50种染色色素[J]. 中国药理学杂志,2016,51(15):1316-1323.
- [30] 李拓,叶小敏,聂小春. 固相萃取-电喷雾高效离子迁移谱法快速检测红花中4种非法添加染色物质[J]. 中国药师,2017,20(8):1349-1351.
- [31] 焦建东,牟卫伟,权勤波,等. 中药染色色素金胺O、日落黄和苋菜红的离子迁移谱技术快检方法研究[J]. 中国药理学杂志,2016,51(6):483-487.

(收稿日期:2020-04-27;修回日期:2020-09-12)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号:78-130,各地邮局均可订阅;补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真:(023) 86592565

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业官方网站在线投稿系统