

中药材中二氧化硫残留量快速测定方法

吉琅, 廖晴, 吕维, 吴恋, 杨茗, 万丽*

(成都中医药大学药学院, 教育部中药材标准化重点实验室, 中药资源系统研究与开发
利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:**建立一种适用于中药材中二氧化硫残留量快速测定的方法。**方法:**根据活泼金属单质锌在稀盐酸中能还原亚硫酸或亚硫酸盐生成硫化氢, 而硫化氢能使乙酸铅试纸变黑的原理, 对 3 大类, 6 个品种, 18 个批次的中药材中二氧化硫残留量进行测定, 并用 2010 年版《中国药典》方法进行验证。**结果:**各批次中药材的硫化铅斑点清晰, 与标准比色卡比对, 可确定二氧化硫残留量范围。**结论:**方法简单易行, 测定时间短, 且装置简单, 适用于药材中二氧化硫残留量的快速定性或半定量测定。

[关键词] 快速检测; 二氧化硫; 中药材; 乙酸铅试纸; 定性或半定量

[中图分类号] R283.6, R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0066-04

[doi] 10.11653/syfy2013100066

Establishment of Rapid Determination Method for Residue of Sulfur Dioxide in Traditional Chinese Herbs

Ji Lang, Liao Qing, Lv Wei, Wu Lian, Yang Ming, Wan Li*

(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a rapid method for determination of sulfur dioxide residue in Chinese herbal medicines. **Method:** By the principle of in dilute hydrochloric acid, the active metal zinc could restore the sulfurous acid or sulfite to produce hydrogen sulfide, while hydrogen sulfide could lead acetate test paper strips black. We had determined sulfur dioxide residue in 18 batches (3 categories, 6 varieties) of Chinese herbal medicines, and then used the 'Chinese Pharmacopoeia' method to verify this experimental method. **Result:** PbS spots of each batch of Chinese herbal medicines was clear, then compared with standard color card, you could determine the range of sulfur dioxide residue. **Conclusion:** This method was simple with short measurement time and simple device, it could be applied to rapid qualitative or semiquantitative determination of sulfur dioxide residues in Chinese herbal medicines.

[Key words] rapid detection; sulfur dioxide; Chinese traditional herbs; test paper of lead acetate; qualitative and semi-quantitative

[收稿日期] 20121009(008)

[第一作者] 吉琅, 在读硕士, 从事中药有效成分分析及质量控制研究, Tel: 15008490700, E-mail: jilangmeimei@126.com

[通讯作者] * 万丽, 教授, 博士生导师, 从事中药有效成分及质量标准研究, Tel: 028-66174295, E-mail: wanli8801@163.com

二氧化硫具有漂白、防腐和抗氧化作用^[1], 用硫磺熏蒸是一些中药材产地粗加工过程中一种习用方法, 且目前尚无更经济、有效的替代方法^[2]。硫磺熏蒸药材后以二氧化硫及各价态硫酸盐的形式残留^[3], 药材及饮片中残留少量的二氧化硫, 进入体内后不会造成伤害, 但如果残留过量则会对人体肠胃造成强烈刺激, 或与血液中硫胺结合, 导致脑、肝、

脾等器官发生病变^[4],还可对神经系统、呼吸系统、生殖系统等造成影响^[5-7],严重危害了临床用药安全。此外,硫磺熏蒸后会破坏有些中药材的有效成分,从而药效降低,如党参^[8]。

目前,国家食品药品监督管理局(SFDA)拟定对二氧化硫残留限量标准实行分级管理^[9]。现行的中药材或饮片中二氧化硫残留量测定法^[10]包括荧光法^[11-12]、离子色谱法^[13]、电化学法^[14]和酶法^[15]等,虽均定量准确,但分析步骤稍繁琐,试验周期较长,不利于开展中药材中二氧化硫残留量的快速检测。因此,如何快速检测药材中二氧化硫残留已成为中药材安全检查中一个重要环节,更是规范中药材市场的有力手段。

现市面上常需要熏硫加工的药材类型主要是富含内酯类、酚酸类、糖苷类及多糖类、蛋白质等生物大分子成分的药材,本实验将这些药材,分为花类、果实种子类、根茎类等。依据 SFDA 对二氧化硫残留限量标准的要求,旨在建立一种用于快速检测中药材及其饮片中二氧化硫残留量的方法,以提高药材的安全质量监测水平,确保中药材质量和用药安全。

1 材料

BP211D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司),UPT-I-10T 型优普 UPT 系列超纯水器(成都超纯科技有限公司),DSY-1-2 型孔恒温水浴锅(北京国华医疗器械厂),IXUS80 型数码照相机(日本佳能公司),二氧化硫残留量快速测定装置(自制,专利号 ZL2011 2 0254892. X),试剂均为分析纯。

所有批次药材均购自成都市荷花池药材市场,经成都中医药大学药教研室卢先明教授鉴定,分别为花类药材中具有代表性的菊花 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 和金银花 *Lonicera japonica* Thunb.;果实类药材中枸杞子 *Lycium barbarum* L. 和山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.;根茎类药材中麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f) Ker-Gawl. 和黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.。自制检查装置见图 1。

2 方法与结果

2.1 实验原理^[16] 用硫磺熏蒸药材后以二氧化硫及各价态的硫酸盐形式残留。亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、二氧化硫等均能在稀盐酸、金属锌共同存在的条件下,释放出硫化氢,硫化氢遇到乙酸铅,生成硫化铅,使乙酸铅试纸变为棕~黑色。因此,可根据乙酸铅试纸反应色斑的颜色深浅和色斑大小来定性或半

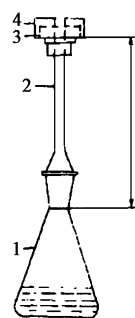


图 1 二氧化硫残留量快速测定装置

定量药材中二氧化硫的残留量。

2.2 装置连接 将导气管通过磨口连接在锥形瓶上,另一端套入中间有圆孔的旋塞内,旋塞盖中央也有圆孔,置于旋塞上,并与旋塞吻合。实验时,在旋塞的顶端平面上放一片乙酸铅试纸,试纸大小以能覆盖孔径而不露出平面外为宜。取待测物置于锥形瓶中,加入适量水、锌粒及盐酸溶液反应后,取出乙酸铅试纸,观察斑点,并与标准比色卡对比,用以测定二氧化硫残留量。

2.3 二氧化硫对照溶液的制备 分别称取亚硫酸氢钠 24.37,48.74,64.97 mg,依次加水 100 mL 配成 0.4,0.3,0.15 g·L⁻¹ 的二氧化硫对照溶液(亚硫酸氢钠溶液不稳定,临用时新配)。照《中国药典》2010 年版一部附录收录的二氧化硫残留量测定法进行试验,结果确定了所配制二氧化硫对照溶液质量浓度的准确性。

2.4 单因素试验考察

2.4.1 锌粒用量 移取 0.3 g·L⁻¹ 二氧化硫对照溶液 3 份于装置中,每份 0.1 mL,加水、盐酸溶液各 10 mL,分别加入锌粒 2,4,6 g,立即塞紧预先装有乙酸铅试纸的装置,反应 20 min。结果表明,试纸颜色无明显差别(图 2),故确定锌粒用量 2 g。

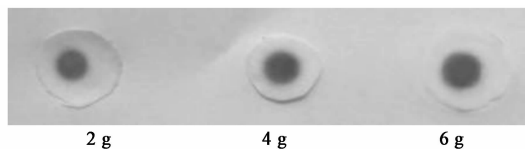


图 2 二氧化硫快速测定方法中锌粒用量考察

2.4.2 盐酸用量的确定 移取 0.3 g·L⁻¹ 二氧化硫对照溶液 3 份于装置中,每份 0.1 mL,各加水 10 mL,锌粒 2 g,分别加入 6 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 3,5,10 mL,立即塞紧预先装有乙酸铅试纸的装置,反应 20 min,结果见图 3。故确定盐酸用量 5 mL。

2.4.3 反应时间的确定 按上述确定的条件加入锌粒和盐酸进行试验,分别反应 10,15,20 min。结果见图 4,故确定最佳反应时间 15 min。

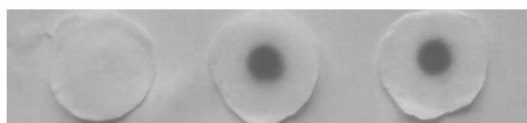


图 3 二氧化硫快速测定方法中盐酸用量考察

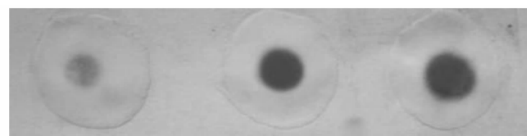


图 4 二氧化硫快速测定方法中反应时间考察

2.5 供试品溶液的制备

2.5.1 不同浸泡温度的考察 称取剪至约 2 mm × 2 mm 的药材 0.1 g 于装置中,加水 10 mL,分别在常温、温水浴(40 ~ 50 °C)和沸水浴中浸泡 20 min,放冷,直接加入锌粒 2 g 和 6 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 5 mL,立即塞紧预先装有乙酸铅试纸的装置,反应 15 min 后观察试纸。结果表明花类药材(以菊花 JH002 为例)、果实类药材(以枸杞 GQ001 为例)及根茎类药材(以麦冬 MD001 为例)最佳浸泡条件为温水浴浸泡。

2.5.2 不同浸泡时间的考察 称取剪至约 2 mm × 2 mm 的药材 0.1 g 于装置中,加水 10 mL,分别在温水浴中浸泡 10,20,30,40 min 后,其余操作同 2.5.1 项下方法。结果表明最佳浸泡时间为 20 min。

2.6 标准比色卡的制备 分别移取质量浓度为 0.4,0.3,0.15,0 g·L⁻¹ 二氧化硫对照溶液 0.1 mL 于装置中,各加水 10 mL,加锌粒 2 g,6 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 5 mL,立即塞紧预先装有乙酸铅试纸的装置。分别于常温下反应 15 min,观察试纸,即得。见图 5。

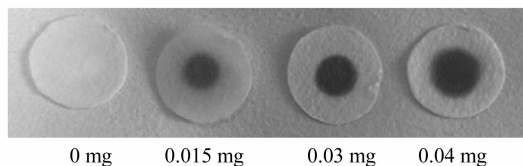
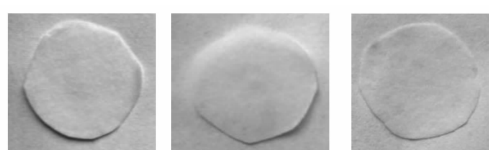


图 5 中药材中二氧化硫残留量测定的标准比色卡

2.7 空白试验 分别称取花、果实、根茎类中一种未熏硫的药材,按 2.6 项下方法操作,见图 6。表明该方法的专属性良好。

2.8 检出限 将 0.15 g·L⁻¹ 的二氧化硫对照溶液分别稀释至 2 × 10⁻³, 4 × 10⁻⁴, 8 × 10⁻⁵ g·L⁻¹, 各取 0.1 mL 加至 0.1 g 阴性样品中,按 2.6 项下方法进行试验。结果表明,当二氧化硫质量浓度 8 × 10⁻⁴ g·L⁻¹ 时,试纸不能检出颜色,而质量浓度为 4 ×



A. 花类;B. 果实类;C. 根茎类

图 6 不同种类药材空白试验

10⁻⁴ g·L⁻¹ 时,刚好能辨认出斑点,故该方法的检出限定为 4 × 10⁻⁴ g·L⁻¹。

2.9 药材中二氧化硫残留量的测定 称取剪至约 2 mm × 2 mm 的药材颗粒 0.1 g 于装置中,按 2.4 项下确定的最佳反应条件进行试验,各批药材进行 3 次平行试验,得样品反应后色斑(图 7)。将其与标准比色卡对照,确定样品中二氧化硫质量浓度范围并判断是否超出规定限量。同时按 2010 年版《中国药典》一部附录记载的方法测定二氧化硫残留量,结果见表 1。

表 1 各样品中二氧化硫残留量的测定(n=3) mg·g⁻¹

No.	速测法	中国药典法
JH001	-	-
JH002	0.15 ~ 0.3	0.244 0
JH003	>0.4	0.743 2
JYH001	-	-
JYH002	0.3 ~ 0.4	0.344 1
JYH003	0.3 ~ 0.4	0.410 5
GQ001	0.15 ~ 0.3	0.295 2
GQ002	-	-
GQ003	0.15 ~ 0.3	0.184 6
SZ001	-	-
SZ002	-	-
SZ003	0.15 ~ 0.3	0.287 3
MD001	0 ~ 0.15 g·L ⁻¹	0.077 1
MD002	>0.4	0.669 2
MD003	>0.4	0.781 1
HQ001	0.15 ~ 0.3	0.265 5
HQ002	0.15 ~ 0.3	0.205 3
HQ003	-	-

注:“-”表示未检测到残留。

由以上结果可知,18 批样品中有 12 批检出残留硫,且其中有 11 批样品中二氧化硫残留量 > SFDA 规定的残留限量标准(150 μg·g⁻¹)。说明药材的熏硫现象相当普遍,应加以控制。

3 讨论

经过反复试验证实,乙酸铅试纸显色的深浅与二氧化硫含量的高低呈线性关系,因此只需按试验步骤同时测定不同质量浓度的二氧化硫对照溶液与待测样品,根据反应颜色的深浅比较即可判断二氧化硫残留量是否超出规定范围。

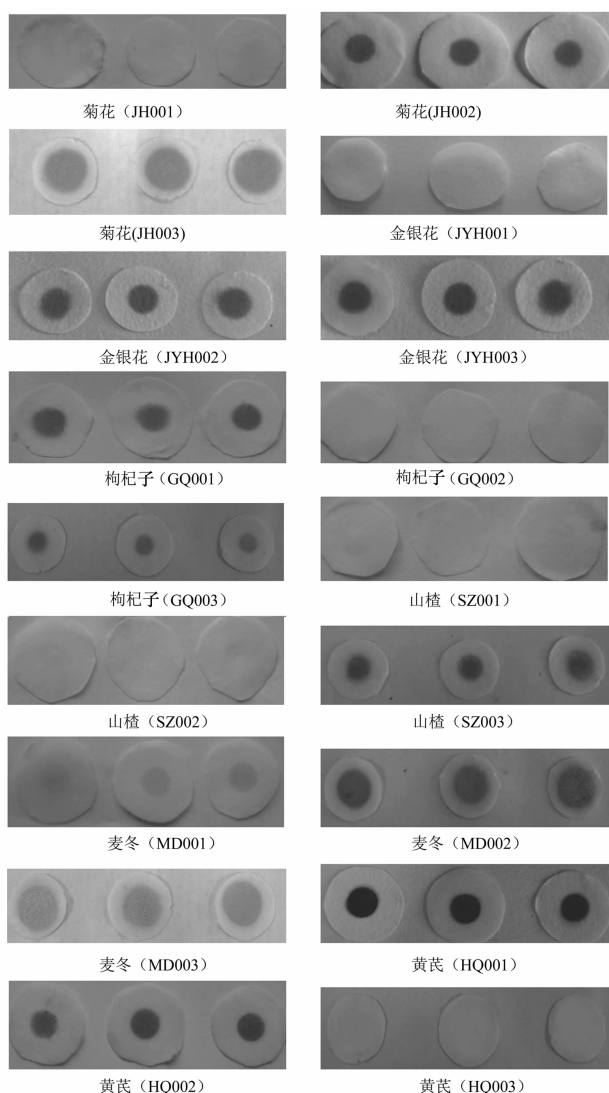


图7 样品中二氧化硫残留量检测

试验中发现,当样品中二氧化硫残留量较高时,斑点的扩散现象较严重,可能是由于二氧化硫残留量过高,生成硫化氢过快而造成了扩散现象,具体原因还有待于进一步考察。本实验建立的方法具有反应时间短、药材前处理简单、反应装置和试剂简单易得、乙酸铅试纸显色灵敏等优点,非常适用于中药材二氧化硫残留量的快速定性或半定量测定,为中药材的生产质量监控及市场准入提供更实用、更经济的检测方法,对确保临床用药安全具有重要意义。

[参考文献]

[1] MENG Z Q, LIU X Y. Effects of sulfur dioxide inhalation on ultrastructures of brains, hearts, kidneys and testicles from mice [J]. *Acta Sci Circum*, 2006, 26 (1):130.

- [2] 杨连菊,冯学锋. 中药材加工、贮藏中的硫磺熏蒸问题[C]. 杭州:中医药学术发展大会论文集,2008.
- [3] 孟紫强,秦国华,白巨利,等. SO_2 对大鼠肺基因组表达谱的影响[J]. *山西大学学报:自然科学版*, 2006, 29(3):225.
- [4] 郑鹏然,周树南. 食品卫生全书[M]. 北京:红旗出版社,1996:487.
- [5] 张波,刘承芸,孟紫强. 二氧化硫对小鼠脑细胞 DNA 的损伤作用[J]. *山西大学学报:自然科学版*, 2003, 26(3):257.
- [6] 白剑英. 食品添加剂亚硫酸盐的研究进展[J]. *环境与职业医学*, 2007, 24(4):431.
- [7] 王慧阳,孟紫强,常凤滨. 二氧化硫体内衍生物对雄性小鼠精子的毒性效应[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12(3):363.
- [8] 李萍,彭百承,甄丹丹,等. 3种含硫量不同的党参药效比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(11):175.
- [9] State Food and Drug Administration. The State Food and Drug Administration formulation of herbs and slices of residue sulfur dioxide standards [N]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0051/63039.html>.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:1309.
- [11] Akasaka K, Ohru H, Meguro H. Fluorometric determination of total and bound sulfite in wine by *N*-(9-Acridinyl) maleimide [J]. *J AOAC Int*, 1993, 76(6):1385.
- [12] Zhan X, Li D, ZHeng H, et al. Fluodmetric determination of sulfite by the c Xl -quenching effect of formaldehyde and sulfite on the fluorescence of tetrasubstituted amino aluminum phthalocyanine [J]. *Anal Chim Acta*, 2001, 448(1/2):71.
- [13] 饶毅,刘玲,刘琼,等. 离子色谱法测定大黄药材中二氧化硫残留量的不确定度评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(22):32.
- [14] Baido M A, Dauiele S, Mazzocchin G A. Voltammetric determination of free sulfur dioxide in wines using platinum and gold disc microelectrodes [J]. *Analyst*, 1994, 119:1239.
- [15] Smith V J. Determination of sulfite using a sulfite oxidase enzyme electrode [J]. *Anal Chem*, 1987, 59(18):2256.
- [16] 刘光亚. 乙酸铅试纸法能否定性检验甲醛次硫酸氢钠[J]. *四川粮油科技*, 1998, 59(1):52.

[责任编辑 全燕]