

中药材及饮片中三种二氧化硫残留量测定方法的比较

丁晴¹, 孙鹏飞², 李龙因¹, 夏蕴³ (1. 无锡市药品安全检验检测中心, 无锡 214000; 2. 江南大学药学院, 无锡 214000; 3. 南京中医药大学翰林学院, 南京 225300)

摘要 目的:采用酸碱滴定法、气相色谱法、离子色谱法分别测定中药材或饮片中二氧化硫的残留量, 比较分析三种检测方法的适用性。**方法:**采用三种检测方法对 19 批中药材及饮片中二氧化硫残留量进行测定, 选取 20 种中药材及饮片进行三种方法的空白加标回收试验, 并对结果进行比较分析。**结果:**酸碱滴定法操作简单、成本低。气相色谱法样品测定速度较快, 但测定结果偏低、专属性较差。离子色谱法灵敏度高、准确度、精密度好。**结论:**建议气相色谱法用于粗筛二氧化硫残留量较高的样品, 酸碱滴定法作为常规测定方法, 离子色谱法作为仲裁方法。

关键词:二氧化硫; 酸碱滴定; 气相色谱; 离子色谱

中图分类号: R 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2017)-6-0000-0

Comparison of three methods for the determination of sulfur dioxide residues in Chinese medicinal materials and prepared pieces

Ding Qing¹, Sun Pengfei², Li Longnan¹, Xia Yun³ (1. Wuxi Institute for drug control, Wuxi 214000; 2. Jiangnan University, Wuxi 214000; 3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nan Jing 225300)

Abstract Objective: The residues of sulfur dioxide in Chinese medicinal herbs and slices were determined by the acid-base titration, gas chromatography and ion chromatography. The suitability of these three methods was compared and analyzed. **Methods:** Three methods were used to determine the residues of sulfur dioxide in 19 batches of Chinese herbal medicines and the prepared slices, and the recovery test was performed with 20 kinds of Chinese herbal medicines and the prepared slices for three methods. The test results are compared and analyzed. **Results:** The acid-base titration method had the advantages of simple operation and low cost. The gas chromatography method was rapid, but the obtained test results were lower and it had the poor specificity. The ion chromatography method had the high sensitivity, accuracy and good precision. **Conclusion:** It is suggested that GC is used to identify the samples with high sulfur dioxide residues, acid-base titration used as the routine test method, and IC used as an arbitration method.

Key words: sulfur dioxide; acid-base titration; gas chromatography; ion chromatography

硫熏法是一种传统的中药材产地加工和流通储藏方法, 能达到杀菌防虫、防霉, 漂白药材的目的^[1,2]。然而, 硫熏往往会造成中药材性味改变, 有效生物活性成分损失及有害物质残留^[2,3]。中国药典 2015 年版(一部)及(四部)对中药材及饮片中二氧化硫残留量做出了限定, 规定山药、牛膝、粉葛等

11 种中药材的二氧化硫残留量不得超过 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其他药材及饮片(矿物类除外)的二氧化硫残留量不得过 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[4,7]。相关数据表明, 硫熏中药材在市场流通领域仍普遍存在。二氧化硫的检测方法有多种, 比如色法、滴定法、离子色谱法、气相色谱法、荧光法、酶光度分析法、化学发光法、毛细

管电泳法等^[5,6]。中国药典 2015 年版(四部)将酸碱滴定法、气相色谱法、离子色谱法作为测定药材或饮片二氧化硫残留量的方法^[7]。

本文采用酸碱滴定法、离子色谱法、气相色谱法对苦杏仁、猪苓、板蓝根、金银花等 19 批中药材及饮片二氧化硫残留量进行测定,选取经法定检验无二氧化硫的 20 个品种中药材及饮片进行空白加标回收试验,并分析比较 3 种测定方法的适用性及结果差异。

1 仪器与试剂

1.1 实验样品

收集市售 19 批中药材及饮片,见表 1。

表 1 19 批中药材及饮片的样品信息

Tab. 1 Sample information of 19 batches of Chinese medicinal materials and slices

样品名称 (sample name)	产地 (origin)	样品编号 (Sample number)
苦杏仁 1 (Armeniaca Semen Amarum)	无锡 (Wuxi)	Y1
苦杏仁 2 (Armeniaca Semen Amarum)	宜兴 (Yixing)	Y2
桃仁 (Persicae Semen)	宜兴 (Yixing)	Y3
郁李仁 1 (Pruni Semen)	宜兴 (Yixing)	Y4
郁李仁 2 (Pruni Semen)	无锡 (Wuxi)	Y5
猪苓 1 (Polyporus)	无锡 (Wuxi)	Y6
猪苓 2 (Polyporus)	宜兴 (Yixing)	Y7
板蓝根 (Isatidis Radix)	宜兴 (Yixing)	Y8
白鲜皮 (Dictamni Cortex)	无锡 (Wuxi)	Y9
半夏 (Pinelliae Rhizoma)	无锡 (Wuxi)	Y10
小通草 (Stachyuri Medulla)	亳州 (Bozhou)	Y11
瓜蒌 (Trichosanthis Fructus)	亳州 (Bozhou)	Y12
瓜蒌皮 (Trichosanthis Pericarpium)	宜兴 (Yixing)	Y13
金银花 1 (Lonicerae Japonicae Flos)	宜兴 (Yixing)	Y14
金银花 2 (Lonicerae Japonicae Flos)	无锡 (Wuxi)	Y15
菊花 1 (Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	宜兴 (Yixing)	Y16
菊花 2 (Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	江阴 (Jiangyin)	Y17
山药 (Dioscoreae Rhizoma)	亳州 (Bozhou)	Y18
粉葛 (Puerariae Thomsonii Radix)	宜兴 (Yixing)	Y19

收集 20 种的中药材及饮片,经法定检验均未检出二氧化硫,分别编号进行加样回收试验,以比较三种测定方法的适用性,见表 2。

1.2 仪器与试剂

XS205DU 电子天平、XP-6 精密电子天平,梅特勒-托利多公司;Trace1300 气相色谱仪 (TG-WAX A,柱长 30 m,柱内径 0.25 mm,膜厚 0.25 μm)、ICS 1100 离子色谱仪 (AS 11-HC,2500mm×4mm),赛默飞世尔科技有限公司;Milli-Q 超纯水机。

标准滴定液:氢氧化钠滴定液(浓度 0.1012 mol

·L⁻¹)、碘滴定液(浓度 0.050 52 mol·L⁻¹)、硫代硫酸钠滴定液(浓度 0.1038 mol·L⁻¹),标定单位无锡市药品安全检验检测中心;硫酸根标准溶液(批号 15073),中国计量科学院;无水亚硫酸钠(批号 H1511025),购自阿拉丁试剂有限公司;过氧化氢、甘露醇、乙二胺四乙酸二钠、甲基红、乙醇均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。实验用水为超纯水。苦杏仁、猪苓、板蓝根、金银花等饮片,均购自市场,并经无锡市药品安全检验检测中心中药室丁晴主任药师鉴定。

表 2 20 种的中药材及饮片的样品信息

Tab. 2 Sample information of 20 batches of Chinese medicinal materials and slices

样品名称 (sample name)	产地 (origin)	样品编号 (Sample number)
苦杏仁 (Armeniaca Semen Amarum)	无锡 (Wuxi)	T1
小通草 (Stachyuri Medulla)	亳州 (Bozhou)	T2
当归 (Angelicae Sinensis Radix)	亳州 (Bozhou)	T3
猪苓 (Polyporus)	无锡 (Wuxi)	T4
桔梗 (Platycodonis Radix)	亳州 (Bozhou)	T5
郁金 (Curcumae Radix)	亳州 (Bozhou)	T6
半夏 (Pinelliae Rhizoma)	亳州 (Bozhou)	T7
牛膝 (Achyranthis Bidentatae Radix)	亳州 (Bozhou)	T8
山药 (Dioscoreae Rhizoma)	亳州 (Bozhou)	T9
天花粉 (Trichosanthis Radix)	宜兴 (Yixing)	T10
百合 (Lilii Bulbus)	宜兴 (Yixing)	T11
淫羊藿 (Epimedii Folium)	无锡 (Wuxi)	T12
金银花 (Lonicerae Japonicae Flos)	江阴 (Jiangyin)	T13
菊花 (Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	宜兴 (Yixing)	T14
白芷 (Angelicae Dahuricae Radix)	亳州 (Bozhou)	T15
茯苓 (Poria)	安徽 (Anhui)	T16
天麻 (Gastrodiae Rhizoma)	亳州 (Bozhou)	T17
白鲜皮 (Dictamni Cortex)	无锡 (Wuxi)	T18
浙贝母 (Fritillariae Thunbergii Bulbus)	亳州 (Bozhou)	T19
白芍 (Paeoniae Radix Alba)	亳州 (Bozhou)	T20

2 方法与结果

2.1 无水亚硫酸钠的标定

参照《中国药典》2010 年版第三增补本“无水亚硫酸钠”项下方法进行含量测定,通过计算得出无水亚硫酸钠的含量(以 Na₂SO₄ 计)为 98.5%,RSD = 0.3% (n = 6)。

2.2 实验方法

酸碱滴定法、离子色谱法、气相色谱法均参照中国药典 2015 年版(四部)“2331 二氧化硫残留量测定法”进行测定。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 气相色谱法:分别精密

量取 0.5、1、2、5、10 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液各 100 μL 置于石蜡层上方,按气相色谱法进行检测。以亚硫酸钠浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线得到亚硫酸钠的线性与范围(图 1)。

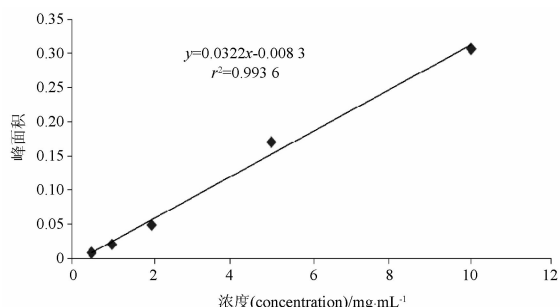


图 1 气相色谱法亚硫酸钠的线性范围

Fig. 1 The linear range of sodium sulfite by gas chromatography

离子色谱法:分别用含硫酸根 1、5、20、50、100、200 μg · mL⁻¹ 的溶液,各进样 25 μL,以硫酸根浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线得到硫酸根的线性与范围。

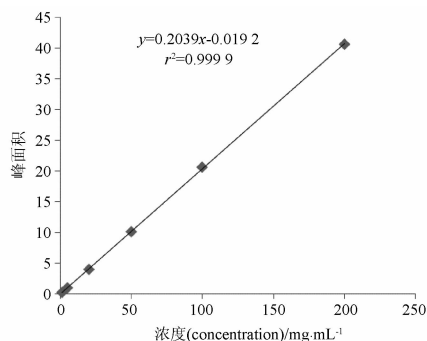


图 2 离子色谱法硫酸根的线性范围

Fig. 2 The linear range of sulfate by ion chromatography

表 3 20 种中药材及饮片加样回收试验测定结果(%, n = 6)

Tab. 3 The recovery results of 20 batches of Chinese medicinal materials and slices

样品名称 (sample name)	酸碱滴定法(acid-base titration)		离子色谱法(ion chromatography)		气相色谱法(Gas chromatography)	
	回收率(recovery)	RSD/%	回收率(recovery)	RSD/%	回收率(recovery)	RSD/%
苦杏仁(Armeniaca Semen Amarum)	76.8	2.1	82.8	3.1	36.7	2.2
小通草(Stachyuri Medulla)	76.5	2.3	76.4	2.4	51.0	5.9
当归(Angelicae Sinensis Radix)	74.2	1.2	84.8	1.2	54.4	1.8
猪苓(Polyporus)	72.3	3.1	76.8	1.3	10.4	1.3
桔梗(Platycodonis Radix)	80.0	1.7	84.7	1.6	55.4	3.1
郁金(Curcumae Radix)	82.1	1.3	95.5	2.1	87.6	2.3
半夏(Pinelliae Rhizoma)	75.2	2.6	93.8	2.7	45.2	2.3
牛膝(Achyranthis Bidentatae Radix)	69.4	3.1	89.7	1.3	72.9	3.8
山药(Dioscoreae Rhizoma)	89.0	1.1	91.7	2.6	91.1	1.9
天花粉(Trichosanthis Radix)	90.2	1.5	93.3	1.1	93.4	2.3

结果表明,两种检测方法的线性良好,相比较而言离子色谱法的线性要优于气相色谱法。

2.3.2 仪器精密度 气相色谱法、离子色谱法分别取 2、50 μg · mL⁻¹ 的对照品溶液, n = 6, 测定精密度。气相色谱法和离子色谱法的精密度 RSD 分别为 5.8% 和 0.6%。离子色谱法精密度要优于气相色谱法。

2.3.3 重复性 取山药饮片,制备 6 份供试品,按“2.1”项下所述方法进行测定(n = 6)。酸碱滴定、气相色谱法和离子色谱法的精密度 RSD 分别为 2.6%、5.6%、2.3%。结果表明:离子色谱法与酸碱滴定法重复性好于气相色谱法。

2.3.4 检出限 酸碱滴定法,以消耗 1 滴 0.01 mol · L⁻¹ 滴定液(约 0.05 mL),相当于检出限约为 3.2 mg · kg⁻¹。离子色谱法与气相色谱法按照信噪比 3:1 计算,其仪器检出限分别为 0.5、10 mg · kg⁻¹。结果表明,离子色谱法检出限最低,气相色谱法检出限最高。

2.3.5 加标回收试验 离子色谱法、酸碱滴定法:取表 2 中阴性样品粗粉 5 g,精密加入亚硫酸钠对照品溶液(精密称取亚硫酸钠 400 mg,用含 0.5% 甘露醇和 0.1% 乙二胺四乙酸二钠的溶液 100 mL 溶解,临用新配) 1 mL,再按样品测定方法进行测定。

气相色谱法:取表 2 中阴性样品粗粉 0.2 g,精密加入亚硫酸钠对照品溶液(精密称取亚硫酸钠 160 mg,用含 0.5% 甘露醇和 0.1% 乙二胺四乙酸二钠的溶液 100 mL 溶解,临用新配) 1 mL,再按样品测定方法进行测定。

20 种中药饮片,三种检测方法的回收率结果见表 3。酸碱滴定法的回收率略低于离子色谱法,气相色谱法不同样品回收率数值差别较大,专属性相对较差。

续表 3 (Table 3 continued)

样品名称 (sample name)	酸碱滴定法(acid-base titration)		离子色谱法(ion chromatography)		气相色谱法(Gas chromatography)	
	回收率(recovery)	RSD/%	回收率(recovery)	RSD/%	回收率(recovery)	RSD/%
百合(Lilii Bulbus)	77.4	1.1	80.1	1.7	41.9	3.2
淫羊藿(Epimedii Folium)	58.2	3.8	59.5	2.3	16.1	2.5
金银花(Lonicerae Japonicae Flos)	43.8	1.2	46.9	1.1	0	1.5
菊花(Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	74.6	3.7	91.1	2.5	29.4	1.9
白芷(Angelicae Dahuricae Radix)	76.8	2.7	71.6	1.6	12.1	3.1
茯苓(Poria)	83.8	1.3	72.1	1.3	93.2	3.5
天麻(Gastrodiae Rhizoma)	70.4	1.8	95.1	3.5	69.1	2.1
白鲜皮(Dictamni Cortex)	78.7	2.1	72.4	1.7	39.8	3.8
浙贝母(Fritillariae Thunbergii Bulbus)	72.4	1.1	97.6	2.4	40.0	1.4
白芍(Paeoniae Radix Alba)	78.4	2.4	90.1	3.2	39.5	3.6
平均回收率(recovery mean)	75.0		82.2		48.1	

2.4 样品测定

酸碱滴定法、离子色谱法、气相色谱法分别称取样品 5.0、5.0、0.2 g, 按“2.1”所述方法进行测定,

三种方法测定结果见表 4。结果表明:酸碱滴定法测定结果与离子色谱法测定结果相近,且均大于气相色谱法。

表 4 19 批样品二氧化硫残留量测定结果($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $n=3$)

Tab. 4 The test results of sulfur dioxide residue in 19 batches of Chinese medicinal materials and slices

样品名称 (sample name)	酸碱滴定法(acid-base titration)		离子色谱法(ion chromatography)		气相色谱法(Gas chromatography)	
	平均含量(mean)	RSD/%	平均含量(mean)	RSD/%	平均含量(mean)	RSD/%
苦杏仁 1(Armeniaca Semen Amarum)	72	1.1	89	1.8	34	9.5
苦杏仁 2(Armeniaca Semen Amarum)	313	1.1	304	2.4	145	8.7
桃仁(Persicae Semen)	164	0.1	156	3.9	58	10.3
郁李仁 1(Pruni Semen)	19	2.7	21	3.2	0	0
郁李仁 2(Pruni Semen)	123	3.5	123	1.5	10	13.0
猪苓 1(Polyporus)	547	1.0	560	0.5	191	5.8
猪苓 2(Polyporus)	805	1.8	910	5.3	636	7.3
板蓝根(Isatidis Radix)	1279	5.5	1214	3.9	314	4.2
白鲜皮(Dictamni Cortex)	1493	3.5	1612	0.6	439	11.9
半夏(Pinelliae Rhizoma)	4058	1.1	4253	2.2	2923	0
小通草(Stachyuri Medulla)	187	7.2	352	2.4	70	0.1
瓜蒌(Trichosanthis Fructus)	804	1.1	766	0.1	159	8.4
瓜蒌皮(Trichosanthis Pericarpium)	6288	3.0	6001	4.3	2851	9.0
金银花 1(Lonicerae Japonicae Flos)	3804	0	3811	2.2	1342	10.8
金银花 2(Lonicerae Japonicae Flos)	3107	6.2	3805	1.2	689	5.1
菊花 1(Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	1458	1.1	1220	0.1	614	5.1
菊花 2(Chrysanthem Hrysanthemi Flos)	948	4.2	889	4.8	506	2.7
山药(Dioscoreae Rhizoma)	186	4.0	172	2.5	50	4.3
粉葛(Puerariae Thomsonii Radix)	3132	5.4	3426	3.4	1288	10.0

对 3 种方法测得的数据用 SPSS 软件进行配对 T 检验,结果见表 5。结果显示 3 种方法具有显著相关性 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.993、0.923、0.907。

2.5 石蜡对气相色谱法测定结果的影响

分别称取 0、0.5、1.0、1.5 g 固体石蜡(熔点

52~56 °C)于 20 mL 顶空进样瓶中,其余方法与“2.1”相同。对 5 批样品进行测定,结果见表 6。结果表明,顶空瓶中加入石蜡的量越高测定的结果越低,不加入石蜡时测定结果与酸碱滴定法较为相近(除板蓝根外)。

表 5 成对样本相关系数

Tab. 5 Correlation coefficients of Paired samples

方法(method)	N	r	概率(Sig.)
酸碱滴定法 & 离子色谱法(acid-base titration & ion chromatography)	19	0.993	0.000
酸碱滴定法 & 气相色谱法(acid-base titration & Gas chromatography)	19	0.923	0.000
离子色谱法 & 气相色谱法(ion chromatography & Gas chromatography)	19	0.907	0.000

3 讨论

酸碱滴定法是中药材二氧化硫残留量检测时最常用的方法,具有设备简单、成本低的优点,但其整个试验过程较长,大约 2 h 可完成 1 批样品的测定,每批试验需要消耗约 240 L 的氮气,且对于一些多

糖或其他黏性物质含量较高的中药材,蒸煮过程易发生爆沸现象;离子色谱法采用水蒸气蒸馏法蒸馏,节省了氮气,且试验时间相对较短(约为 1 h),线性、检出限、重复性等均优于其他两种方法,但其仪器价格比较昂贵,成本较高;气相色谱法与上述两种方法不同,属于直接测定方法,无需样品的提取,简化了操作步骤,大大节省了试验时间,但其检出限、重复性劣于其他两种法,且其受中药材基质影响较高,样品空白加标回收率较低,影响了检测结果的准确性。气相色谱法用石蜡封层解决了待测样品稳定性问题,充分发挥了气相色谱法连续进样的优势,但加入石蜡的同时,对样品与盐酸的反应过程造成一定影响,使得检测结果较其他两种方法要低。

表 6 石蜡的量对检测结果的影响(mg · kg⁻¹)

Tab. 6 The impact of paraffin weight on test results

样品名称 (sample name)	样品编号 (sample number)	酸碱滴定 (acid-base titration)	离子色谱 (ion chromatography)	石蜡称样量(weight of paraffin)/g			
				0	0.5	1.0	1.5
板蓝根(Isatidis Radix)	Y8	1279	1214	734	333	314	301
白鲜皮(Dictamni Cortex)	Y9	1493	1612	1268	527	439	409
半夏(Pinelliae Rhizoma)	Y10	4058	4253	4480	2726	1900	743
瓜蒌皮(Trichosanthis Pericarpium)	Y13	6097	6001	7459	4311	2851	1489
金银花(Lonicerae Japonicae Flos)	Y15	3107	3805	2396	927	689	211

虽然三种检测方法准确性、精密度、检测效率、检测成本等方面存在一定差异,但从测定结果来看,三种检测方法具有显著相关性。酸碱滴定法设备简单、成本较低,各实验室易配备,可以用于常规检验工作;气相色谱法检测效率高,可用于粗筛二氧化硫残留量较高的样品;而离子色谱法灵敏度、精密度、准确度均高于其它两种方法,建议作为仲裁方法。

参考文献

[1] 彭月. 中药材二氧化硫残留量检测技术标准研究[D]. 成都中医药大学,2013
Pen Yue. Study on the determination technology and standards of sulfur dioxide residue in Traditional Chinese Medicine [D]. Chengdu University of TCM, 2013

[2] 卢晓琳. 硫黄熏蒸对白芷化学成分、药效和安全性影响的研究[D]. 成都中医药大学,2013
Lu Xiaolin. Study on the effects of chemical composition, efficacy and safety of Angelica Dahurica by sulfur-fumigation[D]. Chengdu University of TCM,2013

[3] 彭月,李雪莲,银玲,等. 中药材硫熏法加工的研究现状及其二氧化硫残留检测方法[J]. 中药与临床,2012,3(5):5
Peng Yue, Li Xuelian, Yin Ling, et al. Study on the situation of sulfur fumigated processing and determination method of sulfur dioxide residue in Traditional Chinese Medicine [J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2012, 3(5):5

[4] 中国药典[S]. 2015. 一部:28, 56, 59, 73, 105-106, 290
ChP[S]. 2015. Vol I: 28, 56, 59, 73, 105-106, 290

[5] 许玮仪,李耀磊,高芳,等. 中药材及饮片三种亚硫酸盐残留量测定法的比较研究[J]. 中国药师,2015,18(5):782
Xu Weiyi, Li Yaolei, Gao Fang, et al. Comparison of three determination methods for residual sulfite in Traditional Chinese medicinal materials and pieces[J]. China Pharm, 2015, 18(5):782

[6] 陆飏,孙鹏飞,马硕,等. 中药材中二氧化硫残留量测定方法比较[J]. 中南药学,2015,13(10):1077
Lu Fang, Sun Pengfei, Ma Shuo, et al. Comparison of determination methods for sulfur dioxide residue in Chinese herbal medicines [J]. Cent South Pharm, 2015, 13(10):1077

[7] 中国药典[S]. 2015. 四部:30, 208
ChP[S]. 2015. Vol IV: 30, 208

(收稿日期:2017-07-03)