

· 中药农业 ·

种子类药材中二氧化硫残留量的滴定法检测对比

陈建茹¹, 董伟伟¹, 焦晓林², 彭娟¹, 吴馨琰¹, 蒋宁¹, 韩雪¹, 高微微^{2*}

(1. 上海同济堂药业有限公司, 上海 201707;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的:** 比较碘滴定法(Iodine Titration, IT法)与酸碱滴定法(Acid-base titration, ABT法)检测种子类药材中二氧化硫残留量的差异。**方法:** 分别采用两种滴定法检测莱菔子、芥子、沙苑子、紫苏子、急性子、女贞子、补骨脂7种药材共100个批次样品的二氧化硫残留量。对莱菔子及芥子进行两种滴定方法对比实验, 配对t检验分析两种方法的检测结果。采用ABT法检测炒制前后的莱菔子及芥子二氧化硫含量。**结果:** 采用IT法检测12个批次十字花科药材(莱菔子、芥子生品及炒制品)二氧化硫含量全部超出《中国药典》限量标准, 采用ABT法检测的13个批次样品阳性率为53.8%; 其他75批非十字花科药材采用两种滴定法分别检出1个批次的阳性样品。对比实验表明两种滴定法对莱菔子及芥子的检测结果无显著差异($P > 0.05$)。芥子炒制后二氧化硫检出量显著升高($P < 0.05$)。**结论:** 未经硫磺熏蒸的十字花科种子类药材莱菔子与芥子采用IT法与ABT法均能检出二氧化硫, 两种方法的检测结果无显著性差异, 芥子二氧化硫检出量受到炒制的影响。

[关键词] 碘滴定法; 酸碱滴定法; 种子类药材; 莱菔子; 芥子; 炒制

Comparison of Two Titration Methods for Determination of Sulfur Dioxide Residues in Seed Medicines

CHEN Jian-ru¹, DONG Wei-wei¹, JIAO Xiao-lin², PENG Juan¹, WU Xin-yan¹, JIANG Ning,HAN Xue, GAO Wei-wei^{2*}

(1. Shanghai Tongjitang Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201707, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To compare iodine titration(IT) method to acid-base titration(ABT) method for determination of sulfur dioxide residues in seed medicines. **Methods:** IT and ABT methods were used to measure the sulfur dioxide residues in 7 kinds of seed medicines in total of 100 batches, included Raphani Semen, Sinapis Semen, Astragali Complanati Semen, Perillae Fructus, Impatientis Semen, Ligustri Lucidi Fructus, and Psoraleae Fructus. The results of two titration methods in both Raphani Semen and Sinapis Semen were compared by paired t test. The sulfur dioxide content of Raphani Semen, Sinapis Semen was analyzed before and after frying by ABT method. **Results:** With respect of the sulphur dioxide residues in Cruciferae seed medicines included raw and frying Raphani Semen, Sinapis Semen, all 12 batches which detected by IT method exceeded the permissible limits set by Chinese Pharmacopoeia, while the positive rate was 53.8% in 13 batches which detected by ABT. In the rest 75 batches of non Cruciferae seed medicines, both one batch of positive sample were respectively determined by the two titration methods. For Raphani Semen and Sinapis Semen, comparing experiments showed that there was no significant difference between the results obtained by the two titration methods($P > 0.05$). The content of sulfur dioxide in Sinapis Semen was significantly increased after frying($P < 0.05$). **Conclusion:** Without sulfur fumigation, sulfur dioxide could be detected in Cruciferae seed medicines such as Raphani Semen and Sinapis Semen by IT and ABT method, and the results of the two methods had no significant difference. The content of sulfur dioxide in Sinapis Semen was affected by the frying.

[Keywords] iodine titration; acid-base titration; seed medicines; Raphani Semen; Sinapis Semen; frying

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180521001

* [通信作者] 高微微, 研究员, 研究方向: 中药质量与安全、中药资源生态; Tel: (010)57833423, E-mail: wwgao411@sina.com

硫磺熏蒸是部分中药材传统加工和保管养护的常用方法,硫熏时产生的二氧化硫具有干燥、漂白、防霉、防虫和延长贮藏期等作用^[1]。近年来,药材中残留的二氧化硫对人体健康带来的危害引起广泛关注^[2-4]。2005 年版《中华人民共和国药典》删除了山药、葛根和湖北贝母 3 个品种中硫磺熏蒸的加工方法^[5],并于 2008 年增补本开始收录了酸蒸馏-碘滴定法(Iodine Titration, IT 法)测定二氧化硫残留量^[6];2010 年版《中华人民共和国药典》将该检测方法收录于附录 IX U^[7];2012 年发行的第一增补本对方法进行了修订^[8];2013 年发行的第二增补本首次对中药材及饮片二氧化硫残留量进行了限定,规定除山药、牛膝、粉葛、天冬、天麻、天花粉、白及、白芍、白术、党参 10 种中药材及其饮片二氧化硫残留量不得超过 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以外,其他非矿物类中药材及饮片二氧化硫残留量不得超过 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[9]。2015 年版《中华人民共和国药典》延续了上述规定,同时将第四部通则 2331 收录的测定二氧化硫残留量的滴定法由 IT 法改为酸碱滴定法(Acid-base titration, ABT 法)^[10]。目前,虽然 IT 法不再被药典收录,但与现行的食品安全国家标准《食品中二氧化硫的测定(GB 5009.34—2016)》较为类似^[11],近两年的文献中仍有研究者用于检测中药材、食品等^[12-13],IT 法与 ABT 法对样品测定结果的影响尚未见报道。

采用硫磺熏蒸的药材品种多为不易干燥及易虫蛀霉变或褐变的根及根茎类、花类以及动物性药材^[14-15],种子类药材较少使用硫熏工艺。我们前期在样品检测中发现,大多数深色种子类药材很少检出二氧化硫,但十字花科的药材具有特殊性,未经硫熏的药材利用 IT 法仍能检测到二氧化硫。由于十字花科的中药材大多含有硫代葡萄糖苷(硫苷)类化合物及其降解产物^[16-17],这些含硫化合物的存在对二氧化硫残留量测定结果可能会产生影响。本文采用 IT、ABT 两种滴定法,对 7 种种子类药材共 100 个批次样品进行二氧化硫含量测定;对其中二氧化硫检出率较高的十字花科种子类药材莱菔子与芥子,选取同一批药材样品对比两种滴定法检测结果的差异,并采用 ABT 法比较药材炒制前后的二氧化硫含量,为种子类药材的质量评价提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试药材

于 2014—2018 年期间收集 7 种种子类药材共

100 个批次的样品,包括莱菔子 7 个批次,炒莱菔子 6 个批次,芥子 8 个批次,炒芥子 4 个批次,沙苑子 12 个批次,紫苏子 7 个批次,急性子 5 个批次,女贞子 26 个批次,补骨脂 25 个批次。每份样品各取 50 g 左右,粉碎,过 80 目筛,于样品收集后的 3 天内完成二氧化硫残留量的检测。

1.2 仪器与试剂

电子天平(FA2004B, 0.000 1 g, 上海精科天美科学仪器有限公司),粉碎机(111B, 瑞安市永历制药机械有限公司),可调温电热器(TC-15, 海宁市华星仪器厂),磁力搅拌器(H05-1, 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司),25 mL 酸式滴定管,10 mL 碱式滴定管,碘滴定液($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),氢氧化钠滴定液($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),甲基红指示剂($2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 乙醇溶液),氮气(纯度 99.99%),盐酸、可溶性淀粉均为分析纯。

1.3 碘滴定法(IT 法)

参照 2010 年版《中华人民共和国药典》第一增补本附录 IX U 项下“碘滴定法”进行。精密称取药材粉末 10 g,置两颈圆底烧瓶中,加水 400 mL,在刻度分液漏斗中加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL,锥形瓶内加入水 125 mL 和淀粉指示液 1 mL 作为吸收液,置于磁力搅拌器上不断搅拌。打开冷凝管,在其上端连接导气管置于锥形瓶内。连接氮气设置气体流量为 $0.20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。将分液漏斗中的 10 mL 盐酸加至两颈烧瓶中,加热至沸,保持微沸约 3 min 后开始用碘滴定液滴定,至蓝色或蓝紫色持续 30 s 不完全消退,并将滴定结果用空白试验校正。每 1 mL 滴定液相当于 0.640 6 mg 的二氧化硫。

1.4 酸碱滴定法(ABT 法)

参照 2015 年版《中华人民共和国药典》四部项下“酸碱滴定法”进行。以 50 mL 3% 过氧化氢溶液作为吸收液,使用前,在吸收液中加入 3 滴甲基红乙醇溶液指示剂,并用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠滴定液滴定至黄色。与 IT 法采用相同的方式加热,气体流量为 $0.20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,两颈烧瓶中的溶液沸腾后保持微沸 1.5 h 后,停止加热。将吸收液放冷,置于磁力搅拌器上不断搅拌,用氢氧化钠滴定液滴定至黄色持续时间 20 s 不褪,并将滴定的结果用

空白实验校正。每 1 mL 滴定液相当于 0.32 mg 的二氧化硫。

1.5 两种滴定法检测莱菔子、芥子的对比实验

选取 2 个批次莱菔子及 2 个批次芥子样品，精密称取药材粉末 10 g，分别用 IT 法、ABT 法检测二氧化硫的含量，每批次样品重复测定 2 次。

1.6 莱菔子及芥子炒制前后二氧化硫含量测定

选取 3 个批次莱菔子及 3 个批次芥子样品，采用 ABT 法检测炒制前后药材中的二氧化硫含量。

1.7 数据分析

采用 SPSS 20 软件中的配对 t 检验法比较两种滴定法的检测结果、药材炒制前后的二氧化硫检测数据。

2 结果与分析

2.1 不同批次种子类药材二氧化硫检测结果

2014—2015 年参照 2010 年版《中华人民共和国药典》第一增补本，利用 IT 法检测了 49 个批次种子类药材的二氧化硫残留量。表 1 中列出了有检出的 13 个批次的结果，其中来源于十字花科的种子类药材莱菔子、芥子二氧化硫的检出率高达 100%，且检出量均超出 2010 年版《中华人民共和国药典》增补版限量标准($\leq 150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。检出量最高的样品二氧化硫含量高达 $1650 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (炒莱菔子 150501)。其他 5 种非十字花科的 37 批种子类药材仅 1 批次沙苑子检出二氧化硫(表 1)，其余 5 批次沙苑子、3 批次紫苏子、3 批次急性子、9 批次女贞子、16 批次补骨脂均未检出。

2015 年版《中华人民共和国药典》实施之后，自 2015 年 11 月起采用 ABT 法检测了 51 个批次种子类药材的二氧化硫残留量。其中 13 批十字花科莱菔子(7 批)、炒莱菔子(1 批)、芥子(4 批)、炒芥子(1 批)二氧化硫的检出率为 53.8%，仅 1 批次的炒芥子(151201)超出 2015 年版《中华人民共和国药典》限量标准，检出量为 $256 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 1)。其他 5 种非十字花科的 38 批种子类药材，仅 1 批次补骨脂检出二氧化硫(表 1)，其余 6 批次沙苑子、4 批次紫苏子、2 批次急性子、17 批次女贞子、8 批次补骨脂均未检出。

表 1 不同批次种子类药材二氧化硫测定阳性样品及测定结果

测定方法	编号	样品	批号	产地	二氧化硫含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	是否合格
IT 法	1	炒莱菔子	140901	山东	474	不合格
	2	炒莱菔子	150101	山东	1038	不合格
	3	炒莱菔子	150401	山东	1549	不合格
	4	炒莱菔子	150501	山东	1650	不合格
	5	炒莱菔子	150801	山东	880	不合格
	6	芥子	151001	山东	243	不合格
	7	芥子	150417	山东	379	不合格
	8	芥子	150612	山东	421	不合格
	9	芥子	150910	山东	192	不合格
	10	炒芥子	141001	山东	556	不合格
	11	炒芥子	150601	山东	502	不合格
	12	炒芥子	150901	山东	263	不合格
	13	沙苑子	150610	—	5	合格
ABT 法	14	莱菔子	160801	山东	95	合格
	15	莱菔子	170601	甘肃	68	合格
	16	莱菔子	170901	甘肃	106	合格
	17	莱菔子	171101	甘肃	56	合格
	18	芥子	170901	四川	10	合格
	19	芥子	171201	四川	6	合格
	20	炒芥子	151201	山东	256	不合格
	21	补骨脂	160801	江苏	79	合格

注：ND 表示未检出；—表示产地未知。

2.2 两种滴定法对莱菔子、芥子检测结果的对比

对于二氧化硫检出率较高的十字花科种子类药材莱菔子、芥子，采用配对 t 检验分析对比 IT 法与 ABT 法的检测结果。ABT 法对 2 批次莱菔子、2 批次芥子的检测值均高于 IT 法，莱菔子的检测结果高出 42.8%、5.9%；芥子的检测结果高出 360%、178%。但配对 t 检验的结果表明两种滴定法的检测结果无显著差异($P > 0.05$ ，表 2)。

表 2 IT 法与 ABT 法对莱菔子和芥子的测定结果对比

药材	重复	批号	IT 法/ mg·kg ⁻¹	ABT 法/ mg·kg ⁻¹	配对 t 检验 P 值
莱菔子	1	170901	84	74	0.611
		171101	28	85	
		平均值	56	80	
	2	170901	72	74	0.258
		171101	64	69	
		平均值	68	72	
芥子	1	170901	15	36	0.247
		171201	5	55	
		平均值	10	46	
	2	170901	22	48	0.118
		171201	13	51	
		平均值	18	50	

2.3 炒制对莱菔子、炒芥子二氧化硫检出量的影响

采用 ABT 法检测莱菔子、芥子炒制前后的二氧化硫含量，莱菔子炒制前后的数据配对 t 检验 P 值为 0.872，表明炒制前后结果无显著差异 ($P > 0.05$ ，表 3)；芥子炒制前后配对 t 检验 P 值为 0.032，表明炒制后二氧化硫检出量显著高于炒制前 ($P < 0.05$)。

表 3 莱菔子和炒芥子炒制前后二氧化硫的检出量

药材	批号	炒制前/ mg·kg ⁻¹	炒制后/ mg·kg ⁻¹	配对 t 检验 P 值
莱菔子	170401	ND	63	0.872
	170901	106	24	
	171201	56	52	
	平均值	54	46	
芥子	170501	ND	43	0.032
	170901	10	34	
	171201	6	34	
	平均值	5	37	

注：ND 表示未检出。

3 讨论

硫磺熏蒸中药材的过程中，硫磺燃烧产生二

• 1536 •

氧化硫，与药材中的水分结合生成亚硫酸盐等物质，残留在中药材中^[18]。两种滴定法的反应原理均为利用亚硫酸盐与盐酸在加热条件下生成二氧化硫气体，通过吸收液进行收集，再用滴定液进行滴定并计算。种子类药材在收获后不用硫熏，本实验结果表明，沙苑子、紫苏子、急性子、女贞子、补骨脂等非十字花科种子类药材均未检出二氧化硫残留，而十字花科种子类药材莱菔子、芥子大部分样品中均能检出二氧化硫，原因在于莱菔子含有萝卜苷和莱菔子素，芥子含有白芥子苷、芥子碱硫氰酸盐等硫苷及其衍生物^[19-20]，这些含硫化合物在加热情况下也可降解生成二氧化硫^[21]，从而导致阳性结果，并不代表药材用硫熏蒸过。

本实验结果中，2015 年 11 月之前利用 IT 法检测的 5 批次炒莱菔子二氧化硫含量均高于 400 mg·kg⁻¹，而 2015 年 11 月之后用 ABT 法检测的 7 批莱菔子有检出的批次二氧化硫含量均在 106 mg·kg⁻¹ 以下，原因一方面与炒制有关，另一方面与两种方法本身的差异有关。对同一批芥子的炒制结果证实芥子炒制后二氧化硫检出量显著升高 ($P < 0.05$)，原因可能是炒制导致药材中含硫成分转化造成的^[22]。另外，十字花科种子类药材中硫苷类成分含量还与药材产地、品种等有关^[23-25]，可能也是不同批次十字花科种子类药材二氧化硫检出量存在差异的原因。

IT 法与 ABT 法的差异在于吸收液与滴定液不同，加热时间也存在差异，IT 法边加热边滴定，加热时间受样品释放二氧化硫的总量与速率有关，而 ABT 法的加热时间固定为 1.5 h。本研究结果表明，ABT 法对莱菔子、芥子的检测结果高于 IT 法，推测可能的原因与两方法中加热时间不同，样品中硫苷分解生成的二氧化硫量有差异有关，但两种方法的检测结果未达到显著差异 ($P > 0.05$)。两种方法的差异需进一步增加样本量确认。另外，2015 版《中华人民共和国药典》除滴定法以外，还增加了离子色谱法与气相色谱法，这 3 种方法中以滴定法操作最为简便，成本也最低，应用较为普遍，其他两种方法受仪器昂贵、技术要求高、样品前处理复杂的限制，多出现在研究报道中，在生产企业中应用较少^[26]。从检测结果的精确性和准确性考虑，在今后的工作

中有必要对3种方法在十字花科药材上应用的一致性进行确认。

参考文献

- [1] 冯学译,杨连菊,格小光. 中药材使用硫磺熏蒸方法探源[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(S1):374.
- [2] 刘玉香. SO₂的危害及其流行病学与毒理学研究[J]. 生态毒理学报,2007,2(2):225-231.
- [3] Sunyer J, Ballester F, Tertre A L, et al. The association of daily sulfur dioxide air pollution levels with hospital admissions for cardiovascular diseases in Europe (the Aphea II study) [J]. Eur Heart, 2003, 24: 752.
- [4] 李仕剑, 黄瀚. 中药不良反应原因再探讨[J]. 中国现代中药, 2016, 18(10): 1376-1380.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:21,233,242.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:第一增补本[M]. 北京:化学工业出版社,2008:附录 IX U.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 IX U.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:第一增补本[M]. 北京:中国医药科技出版社,2012:附录 IX U.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:第二增补本[M]. 北京:中国医药科技出版社,2013:附录 IX U.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:通则 2331.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准:食品中二氧化硫的测定[S], GB 5009. 34—2016, 2016.
- [12] 朱亚伟,何军,李俊. 三种方法测定水产品中亚硫酸盐残留量比较分析[J]. 食品科技,2016(4):298-301.
- [13] 孟杰,王礼均,朱文俊,等. 含苦杏仁苷中药材及其饮片二氧化硫超标问题研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(1): 82-85.
- [14] 段金殿,赵润怀,宿树兰,等. 对硫磺熏蒸药材的基本认识与建议[J]. 中国现代中药,2011,13(4):3-5.
- [15] 曹婷婷,孙志蓉,杨春宁,等. 硫磺熏蒸中药材的研究现状分析[J]. 中国现代中药,2016,18(5):678-681,688.
- [16] Mithen R. Glucosinolates biochemistry, genetics and biological activity [J]. Plant Growth Regul, 2001 (34): 91-103.
- [17] Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B, et al. Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats[J]. Br J Nutr, 2003(90): 395-404.
- [18] 高颖,房德敏,马逾英,等. 中药材硫磺熏蒸干燥加工方法的现状、问题及对策[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(6):506-508.
- [19] 张茜,周洪雷,朱立俏,等. 莱菔子化学成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(4):137-140.
- [20] Pedras M S C, Zaharia I L, Sinalbins A and B, phytoalexins from *Sinapis alba*: elicitation, isolation, and synthesis [J]. Phytochemistry, 2000, 32(14): 213-216.
- [21] 阮思煜. 萝卜硫苷和花色苷体系稳定性及壳聚糖脱臭机理初步研究[D]. 镇江:江苏大学,2011.
- [22] 梁燕,赖庆水,刘强. 炒制对白芥子中芥子碱硫氰酸盐含量的影响[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(10): 1579-1580.
- [23] 苏永汶,孟祥红,王群,等. 炒莱菔子饮片质量与萝卜苷含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 40-43.
- [24] 李媛,赵振华,李勇,等. 三个品种莱菔子生药学研究[J]. 山东农业科学, 2016, 48(6): 58-61.
- [25] 逢镇,张村,李丽,等. 白芥子及其炮制品的 HPLC 鉴别[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(10): 699-701.
- [26] 纪琳,李东翔,彭纓,等. 中药材及饮片中二氧化硫残留的研究进展[J]. 中国现代中药, 2015, 17(2): 185-190.

(收稿日期 2018-05-21)