

中药二氧化硫残留检测的前处理技术研究进展^Δ

谢嘉驰^{1,2*}, 夏伯候^{1,2}, 廖端芳^{1,2}, 肖冰梅^{1#}, 林丽美^{1,2} (1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208; 2. 中药有毒物质防控技术湖南省工程实验室, 长沙 410208)

中图分类号 R284;R927

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2017)18-2585-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.18.39

摘要 目的: 为中药二氧化硫残留检测的前处理技术的进一步研究及应用提供参考。方法: 查阅近年来国内外相关研究文献, 就中药二氧化硫残留检测的前处理技术进行归纳、整理和综述。结果与结论: 样品前处理是中药二氧化硫残留检测过程中的重要环节, 其提取方法主要包括蒸馏提取法、超声提取法和全自动提取法, 富集方法主要包括加速溶剂萃取法、分散液液微萃取法、固相萃取法、顶空单液滴微萃取法和浊点萃取法, 衍生化方法需要选择适当的衍生试剂, 净化方法需要选择适当的吸附剂与洗脱液。由于不同的前处理技术有其各自的优缺点和适用范围, 在实际工作中, 应根据待测样品种类和基质、测定结果要求及检测仪器的不同, 并结合具体条件选用合适的样品前处理方法。

关键词 中药; 二氧化硫; 残留检测; 前处理技术

近年来, 中药(中药材和饮片)二氧化硫超标事件频频曝光, 业内相关人士对于中药二氧化硫残留检测的关注度逐渐增加。中药二氧化硫残留检测主要包括样品前处理和检测两个环节, 其中样品前处理是关键环节, 它在很大程度上决定检测结果的准确性和精密度, 也是目前国内中药检测领域研究的瓶颈和热点问题之一^[1-2]。

样品前处理是将二氧化硫或亚硫酸盐从样品中最大限度地提取富集出来, 并消除检测过程中的干扰物, 为下一步的分析检测工作提供保障, 主要包括提取、富集、衍生化、净化等步骤。由于中药成分复杂, 干扰因素多, 而传统的前处理技术通常需要特定装置, 操作烦琐, 耗时耗力, 试剂使用量大, 选择性差, 提取效率低, 且易出现假阳性结果, 故从20世纪70年代起, 为克服传统前处理技术的不足, 许多新的方法和技术相继出现并被加以应用, 如全自动提取法、固相萃取法、浊点萃取法、分散液液微萃取法等。笔者查阅近年来国内外相关研究文献, 就中药二氧化硫残留检测的前处理技术进行归纳、整理和综述, 旨在为中药二氧化硫残留检测前处理技术的进一步研究及应用提供参考。

1 提取

1.1 蒸馏提取法

蒸馏提取法是传统中药二氧化硫残留检测的前处理方法之一, 包括酸碱蒸馏法、水蒸气蒸馏法等, 主要是利用亚硫酸根离子在加热的条件下与酸(盐酸、硫酸、硝酸、柠檬酸等)发生氧化还原反应, 使亚硫酸盐转化为二

氧化硫, 然后用适宜的溶剂作为吸收液, 使二氧化硫全部转化为硫酸根以便进行检测。其反应原理表达式为: $\text{SO}_3^{2-} + \text{H}^+ \xrightarrow{\Delta} \text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O}$, $\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ 。该方法干扰物质主要为氮氧化合物, 无色, 干扰因素容易排除, 测定更准确, 适合所有固、液态样品。但是蒸馏提取法需要搭建一系列装置, 操作比较复杂, 而且每次只能处理1个样品, 蒸馏时间一般要1 h左右, 处理时间长, 无法实现快速检测。

McLeod S等^[3]优化了传统的蒸馏方法, 采用在线微蒸馏技术提取葡萄汁和葡萄酒中的游离亚硫酸和结合型亚硫酸盐。微蒸馏技术无需利用酸与亚硫酸根离子的氧化还原反应, 而是直接利用热空气将二氧化硫从葡萄酒样品中提取出来, 二氧化硫检测质量浓度线性范围为1~300 mg/L, 该方法比传统蒸馏法更有效, 在指定的控制条件下具有良好的相关性。

Zhong Z等^[4]用快速蒸馏法处理样品, 使用离子色谱法测定食品中的二氧化硫残留量。该方法取消传统的加酸还原模式, 改用水蒸气和二氧化碳进行蒸馏产生碳酸钠和硫酸; 蒸馏产品被氢氧化钠溶液收集, 用离子色谱法测定亚硫酸盐。其回收率为76.7%~104.8%, 相对标准偏差为0.7%~8.2%, 检测质量浓度线性范围为0.051~32.1 mg/L, 检测限为0.013 mg/L。该方法被成功地应用于食品中总的二氧化硫测定, 如干燥蔬菜、粉丝和葡萄酒, 蒸馏过程仅需3 min, 无需添加氮气或空气。与常规蒸馏方法相比, 该方法具有省时和简化工作流程的优点, 已被列入2015年版《中国药典》。

1.2 超声提取法

超声提取法以其所需温度低、提取率高、时间短的独特优势被广泛应用于中药中各种成分的提取, 是一种高效、节能、环保的现代高新技术手段。该方法利用超声波对媒质独特的机械振动作用和空化作用, 加速待测

Δ 基金项目: 公益性中医药行业科研专项(No.201407003); 长沙市科技计划重点项目(No.k1406030-31); 湖南省“十五”重点学科项目(No.湘教发[2011]42号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药成分分析。电话: 0731-88458234。E-mail: xiejiachi4666@163.com

通信作者: 教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 中药品质评价。电话: 0731-88458234。E-mail: 973540583@qq.com

物在提取液中的溶解,提高萃取效率。

马占玲等^[5]采用超声快速提取法测定食品中的亚硫酸盐残留量。该方法操作简便、重复性好、省时,但是其所用四氯汞钠容易产生环境污染,现已禁止使用。

董亚茹等^[6]采用超声提取法测定食用菌中的二氧化硫残留量。此方法与传统的浸提法比较,用时较短、提取效率更高,且使用乙二胺四乙酸二钠吸收液代替四氯汞钠吸收液避免了环境污染,从而可用于食用菌中二氧化硫含量的快速、安全测定。

与蒸馏提取法相比,超声提取法操作更简便,提取效率更高,但如果所得样品溶液比较浑浊时就需要添加澄清剂,而澄清剂的加入可能会干扰测定结果,因此该法不适用于色泽深的样品。

1.3 全自动提取法

全自动提取法是采用凯氏定氮仪进行提取的一种方法,其原理是在密闭容器中对试样进行酸化加热蒸馏,以释放出其中的二氧化硫,释放物用乙酸铅溶液吸收,吸收后用浓酸酸化,再以碘标准溶液滴定,根据所消耗碘标准溶液量计算出样品中的二氧化硫含量,适合于各种固、液样品的大批量蒸馏检测。

吕玉琼等^[7]采用凯氏定氮仪对食品中二氧化硫的残留检测进行比较,谢艳云等^[8]采用凯氏定氮仪-电位滴定仪联合使用快速检测果脯中的二氧化硫残留量,两项研究中采用全自动提取法的测定结果与采用传统玻璃蒸馏仪蒸馏法的测定结果一致,无显著性差异。

凯氏定氮仪可自动完成加酸、加碱,无需人为干预,操作简单,蒸馏速度快、准确、可靠,省时省力,日蒸馏样品可达几十份,适用于批量样品的蒸馏提取。其有相当的实用性,可替代传统的玻璃仪器蒸馏仪。其缺点主要是样品炭化过程中,升温速度过快会使样品溢出消化管或溅起黏附在管壁导致无法消化完全而造成氮损失,影响结果准确性,且所用试剂有腐蚀性。

2 富集

2.1 加速溶剂萃取法

加速溶剂萃取法是近年推出的全新处理固体和半固体样品的方法,其基本原理是在提高温度和压力的条件下,用有机溶剂进行自动化萃取。

章剑扬等^[9]采用加速溶剂萃取法结合离子色谱法测定菊花样品中二氧化硫残留量。该方法检测质量浓度线性范围为0.5~50 mg/L,检测限为0.05 mg/L,定量限为0.17 mg/L。与液液萃取法相比,该方法快速(15 min)、有机溶剂用量少(1 g样品仅需1.5 mL溶剂)、萃取效率高(同时可以选用4种溶剂萃取)、安全(多个传感器可以保证仪器安全运行)、可全自动进行大量样品处理(只需将样品装入萃取池设定程序即可自动工作),适合于批量测定中药二氧化硫残留量。但是该方法设备投资大,提取成本高,目前在中药分析检测前处理中使用并不多。

2.2 分散液液微萃取法

分散液液微萃取法是一种简单、快速的方法,其利用化合物在两种互不相溶(或微溶)的溶剂中溶解度或分配系数的不同,使化合物从一种溶剂中转移到另外一种溶剂中,经过萃取,实现对化合物的富集。

Filik H等^[10]采用分散液液微萃取-光纤线性阵列分光光度法测定环境水样与干果中亚硫酸根的含量。该方法是基于亚硫酸盐在碱性条件下与邻苯二甲醛(OPA)形成异吡啶衍生物,从而实现对其亚硫酸根离子的萃取富集。该方法可以简单、快速测定微量的亚硫酸盐,并且具有良好的准确性和重现性,其检测限为0.2 µg/L。但是该方法需要大量使用有机溶剂,难以实现自动化。

2.3 固相萃取法

固相萃取法是利用固体吸附剂将液体样品中的目标化合物吸附,使其与样品的基体和干扰化合物分离,然后再用洗脱液洗脱或加热解吸附,达到分离和富集目标化合物之目的。

Okumura M等^[11]、Tang D等^[12]通过Sep-Pak C₁₈柱固相萃取富集硫化物,分别采用分光光度法、高相液相色谱法(HPLC)测定环境水样中的硫化物。其中,Okumura M等利用水样中硫化物与N,N-二甲基对苯二胺硫酸盐及氯化亚铁反应生成亚甲基蓝;用Sep-Pak C₁₈柱固相萃取亚甲基蓝,使用甲醇与0.01 mol/L盐酸混合溶液作为洗脱剂,将洗脱物在659 nm波长处进行检测,由此可检测湖水样品中质量浓度在10~100 µg/L范围内的硫化物,回收率为93%~100%。Tang D等将铁离子作为催化剂,用Sep-Pak C₁₈柱吸附硫化物与N,N-二甲基对苯二胺酸性条件下反应的产物,再用HPLC色谱柱进行梯度洗脱,检测其吸光度,由此可以检测河口水样品中浓度在2.1~4.7 nmol/L范围内的硫化物。

固相萃取法克服了液-液萃取技术及一般柱层析技术的缺点,具有高效、简便、快速、安全、重复性好、便于自动化前处理等特点,根据待测二氧化硫及亚硫酸盐理化性质选用合适的微型柱和淋洗剂以及其他优化条件后,可使萃取、富集、净化一步完成。但固相萃取法成本高、要求的技术高,且所用的萃取小柱容易堵塞。

2.4 顶空单液滴微萃取法

顶空单液滴微萃取法^[13]是指将一滴萃取溶剂悬挂于进样针尖的顶端,插入到待测试样的顶空,吸附萃取一定时间后,将液滴吸回到进样针中的萃取过程。

Gómez-Otero E等^[14]通过顶空单液滴微萃取联合紫外可见分光光度法测定水果与蔬菜中的亚硫酸盐,其最低检测限为0.06 µg。该方法简单、快速、灵敏度高、环保、样品萃取完可直接在气相色谱仪上进样分析。它最开始应用于环境水样与生物样品中的药物分析,目前已迅速扩展至食品分析领域。通过该原理,可将此方法应用于中药材及饮片二氧化硫残留量测定。但是由于

该萃取方式的人为因素较大,重复性较差,而采用半自动化的装置可提高方法的重复性。

2.5 浊点萃取法

浊点萃取法是近年出现的一种新型的液-液萃取技术,不使用挥发性有机溶剂,是以中性表面活性剂胶束水溶液的溶解性和浊点现象为基础,改变试验参数,将疏水性物质与亲水性物质分离,从而实现溶质分离和富集。该方法尤其适用于有毒无机阴离子,如氰化物、亚硝酸盐、硒和碘酸盐/过碘酸盐、甲醛、亚硫酸盐^[13-18],目前已引起高度关注。浊点萃取法具有较强富集能力,已被成功地应用于食品、饮料、环境样品检测中。

Altunay N等^[19-21]分别采用超声辅助浊点萃取法结合分光光度法、火焰原子吸收光谱法测定饮料、蔬菜与干果中的微量亚硫酸盐,在超声辅助提取帮助下有利于促进样品成分的溶出,加速富集,其检测限范围可达到0.012~350 μg/L。浊点萃取法具有成本低、方便简单、安全无污染等优势。但是萃取剂的选择、温度和平衡时间等因素易影响该方法的回收率和重复性。

3 衍生化

衍生化可把难于分离的物质转化为与其化学结构相似但易于量化分离的物质。而根据被分析物的性质,需要选择合适的衍生试剂进行衍生化。徐琴等^[22]利用柱后衍生试剂A KOH/NaOH可使羟甲基磺酸盐在碱性条件下反应生成 SO_3^{2-} ,并利用衍生试剂B二硫双对硝基苯甲酸(其是一种可被还原的二硫化物)在 H_3PO_4 缓冲液介质中可与 SO_3^{2-} 反应生成5-巯基-2-硝基苯甲酸的原理,采用HPLC柱进行柱后衍生分离,在紫外最大吸收波长处进行检测,测得脱水蒜粉中5-巯基-2-硝基苯甲酸质量浓度线性范围为0.1~10 μg/mL,检测限为2.0 mg/kg。彭月等^[23]利用亚硫酸盐-邻苯二甲醛-铵盐在一定的条件下反应生成具有强烈荧光的化合物1-磺酸基-异吲哚的原理,采用振荡提取法以碱性溶液对山药、葛根等中药进行提取,再与邻苯二甲醛和乙酸铵经衍生化后,在激发波长321 nm、发射波长384 nm下测定衍生物的荧光强度,测得亚硫酸钠检测浓度线性范围为0.996 97~17.99 nmol/L。

衍生化可以改善样品的色谱特性,改善分离效果,提高检测选择性和灵敏度,有利于样品定性和定量分析,也可以对分离的化合物起到保护作用。但其对衍生试剂纯度要求高,衍生试剂选择少,阻碍了其广泛应用。

4 净化

净化原理是由液固萃取和液相色谱两种技术相结合发展而来,目标化合物通过吸附作用被固体吸附剂吸附,与其他杂质和干扰物分离,然后用一定的溶剂将其洗脱,从而达到分离净化目的。彭晓俊等^[24-25]利用反相LC- C_{18} 柱净化蔬菜样品,再采用HPLC法检测,发现其能有效去除杂质峰的干扰,且回收率较高。根据待测物的极性,选择不同的吸附剂与洗脱液,不仅可起到有效净

化样品基体的效果,从而有效避免试液颜色产生的假阳性,还可以起到预分离作用。而该技术缺点是浓缩过程耗时较长。

5 结语

二氧化硫残留检测的相关技术应用于食品、环境水样分析领域,已经取得了较大发展。而随着当前世界各国对中药安全要求越来越严格,人们对中药二氧化硫残留问题也越来越重视,这就对二氧化硫残留检测的相关技术尤其是前处理技术提出了更高的要求。样品前处理是二氧化硫残留检测过程中的关键环节,它关系着检测结果的准确性和可靠性。随着科技的进步,各种新的自动化仪器设备不断出现,多种仪器的联用技术日益成熟,二氧化硫残留检测的前处理技术也在快速发展,实现样品提取、富集、衍生化、净化一步完成将是今后的发展方向。然而,由于不同的前处理技术有其各自的优缺点和适用范围,在实际工作中,应根据待测样品种类和基质、测定结果要求及检测仪器的不同,并结合具体条件选用合适的样品前处理方法。

参考文献

- [1] Hongfei S. Research progress of sample pretreatment technology in analytical chemistry[J]. *Chem Anal Meter*, 2007, 16(5):81.
- [2] 张淑霞,高亚辉,巩卫东,等.食品中农药残留检测样品前处理的研究[J].*粮油加工*, 2010(7):78-81.
- [3] McLeod S, Davey DE. Rapid microstill determination of free and total sulfite in wine with conductimetric detection[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 600(1/2):72-77.
- [4] Zhong Z, Li G, Zhu B, et al. A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in foods[J]. *Food Chem*, 2012, 131(3):1044-1050.
- [5] 马占玲,曾凌,励建荣,等.四氯汞钠吸收-超声快速提取法测定食品中的亚硫酸盐[J].*科学技术与工程*, 2013, 13(3):786-789.
- [6] 董亚茹,董满莉,万娟,等.超声提取-EDTA-2Na吸收-盐酸副玫瑰苯胺法测定食用菌中的二氧化硫[J].*食品科技*, 2015, 40(3):319-323.
- [7] 吕玉琼,王军,陈裕华,等.自动凯氏定氮仪与玻璃蒸馏仪测定食品中二氧化硫的比较[J].*职业与健康*, 2006, 22(5):340-341.
- [8] 谢艳云,张明明,邓颖妍,等.凯氏定氮-电位滴定仪联合快速检测果脯中的二氧化硫[J].*食品科学*, 2010, 31(14):225-228.
- [9] 章剑扬,陈利燕,马桂岑,等.加速溶剂萃取/离子色谱法测定菊花中的 SO_2 残留[J].*分析测试学报*, 2014, 33(5):578-582.
- [10] Filik H, Çetintaş G. Determination of sulfite in water and dried fruit samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with UV-vis fiber optic linear array spectrophotometry[J]. *Food Anal Method*, 2012, 5(6):

清开灵制剂的临床应用研究进展

吴春芝^{1*},刘红在²,岳文³,谷福根^{1#}(1.内蒙古医科大学附属医院药剂部,呼和浩特 010050;2.内蒙古第三医院药剂科,呼和浩特 010010;3.内蒙古民族大学附属医院临床药学科,内蒙古通辽 028000)

中图分类号 R289.3;R283.6;R285.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)18-2588-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.18.40

摘要 目的:为清开灵制剂更好地应用于临床提供参考。方法:以“Qingkailing”“清开灵”“临床应用”等为关键词,在PubMed、中国知网、万方数据库等中组合检索2011年1月—2016年8月发表的清开灵制剂临床应用相关研究文献,进行归纳、整理和综述。结果:共检索到相关文献298篇,其中有效文献32篇。清开灵制剂临床除单用或联用于治疗儿科疾病、呼吸系统疾病外,还在心脑血管与中枢神经系统疾病、酒精与安眠药中毒以及其他一些疾病治疗中有着广泛而重要的应用。结论:尽管目前对清开灵制剂的临床应用研究较多,但其在临床的实际应用范围尚较窄,仍有进一步拓展的空间。

关键词 清开灵制剂;临床应用;进展

清开灵制剂是由《温病条辨》所载古方“安宫牛黄丸”经演变研制而成的复方制剂,主要由胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花等8味药组成,具有清热解毒、镇静安神的功效,用于外感风

1362-1367.

[11] Okumura M, Yano N, Fujinaga K, *et al*. In situ preconcentration method for trace dissolved sulfide in environmental water samples using solid-phase extraction followed by spectrophotometric determination[J]. *Anal Sci*, 2005, 15(5):427-431.

[12] Tang D, Santschi PH. Sensitive determination of dissolved sulfide in estuarine water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography of methylene blue[J]. *J Chromatogr A*, 2000, 883(1/2):305-309.

[13] 王帅斌,谢建春,孙宝国.顶空单液滴微萃取在挥发性成分分析中的应用进展[J].*食品科技*, 2007, 32(10):25-29.

[14] Gómez-Otero E, Costas M, Lavilla I, *et al*. Ultrasensitive, simple and solvent-free micro-assay for determining sulphite preservatives (E220-228) in foods by HS-SDME and UV-vis micro-spectrophotometry[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(8):2133-2140.

[15] Gürkan R, Yilmaz Ö. Cloud point extraction of trace cyanide from environmental waters for indirect flame atomic absorption spectrometric determination[J]. *Toxicol Environ Chem*, 2013, 95(9):1455-1469.

[16] Zarei AR. Sequential spectrophotometric determination of trace amounts of per iodate and iodate in water samples after micelle-mediated extraction[J]. *J Anal Chem*, 2009, 64(9):896-902.

[17] Wen X, Zhang Y, Li C, *et al*. Comparison of rapidly synergistic cloud point extraction and ultrasound-assisted cloud point extraction for trace selenium coupled with spectrophotometric determination[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014, (123):200-205.

[18] Wang L, Xu L. Cyclic Voltammetric determination of free and total sulfite in muscle foods using an acetylferrocene-carbon black-poly(vinyl butyral) modified glassy carbon electrode[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(42):10248-10253.

[19] Altunay N, Gürkan R. A new simple UV-Vis spectrophotometric method for determination of sulfite species in vegetables and dried fruits using a preconcentration process[J]. *Anal Method*, 2015, 8(2):342-352.

[20] Altunay N, Gürkan R, Sertakan K. Indirect determination of free, total, and reversibly bound sulfite in selected beverages by spectrophotometry using ultrasonic-assisted cloud point extraction as a preconcentration step[J]. *Food Anal Method*, 2015, 8(8):2094-2106.

[21] Altunay N, Gürkan R. Preconcentration of sulfite from food and beverage matrices by ultrasonic assisted-cloud point extraction prior to its indirect determination by flame atomic absorption spectrometry[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(25):20961-20970.

[22] 徐琴,王凤美,牟志春,等.固相萃取-柱后衍生-反相高效液相色谱法测定脱水蒜粉中的亚硫酸盐[J].*分析试验室*, 2009, 28(10):120-122.

[23] 彭月,李雪莲,银玲,等.荧光衍生法测定中药二氧化硫残留量研究[J].*中国中药杂志*, 2013, 38(2):212-216.

[24] 彭晓俊,邓爱华,庞晋山.柱后衍生-高效液相色谱法测定金针菜中亚硫酸盐[J].*理化检验化学分册*, 2011, 47(12):1488-1490.

[25] 彭晓俊,邓爱华,庞晋山.高效液相色谱柱后衍生测定脱水蔬菜中的亚硫酸盐[J].*分析科学学报*, 2012, 28(1):83-86.

* 主任药师。研究方向:医院药学。电话:0471-3451657。
E-mail:gfg1968@163.com
通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:药物新剂型。电话:0471-3451681。E-mail:fgczh@sina.com

(收稿日期:2016-10-31 修回日期:2017-05-09)
(编辑:周 簪)