

白芍储藏一年芍药苷及二氧化硫残留变化

于定荣^{*}，肖永庆，麻印莲，李丽，刘颖，张村，顾雪竹，杜茂波，陈畅
(中国中医科学院 中药研究所，北京 100700)

[摘要] 目的:探讨硫磺熏蒸白芍在储藏一年中其芍药苷及二氧化硫残留的变化,为解决白芍质量与安全的硫磺熏蒸相关问题提供科学依据。方法:将白芍与硫磺熏蒸白芍药材及其饮片在相同条件下储藏一年,分别测定其芍药苷、二氧化硫残留量。结果:白芍硫磺熏蒸后芍药苷含量显著性降低;在切片及煎煮过程中芍药苷也有所下降;芍药苷含量最低为 2.805%;符合 2015 年版《中国药典》中芍药苷含量不低于 1.6% 的要求;硫磺熏蒸会导致二氧化硫残留,以饱和硫磺熏蒸白芍,残留量最高为 284.239 mg·kg⁻¹,但低于二氧化硫残留量检查项目限度“二氧化硫残留量不得超过 400 mg·kg⁻¹”的规定;且在切片、煎煮以及储藏过程中会损失大部分。结论:白芍经硫磺熏蒸后,芍药苷含量下降明显,且有二氧化硫残留;但软化、切片及煎煮过程中二氧化硫残留量大大降低,硫磺熏蒸技术现阶段可以保留。

[关键词] 白芍;硫磺熏蒸;芍药苷;二氧化硫残留量;储藏

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)21-0063-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210063

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0900.004.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:00

Changes in Residues of Paeoniflorin and Sulfur Dioxide in Paeoniae Radix Alba

YU Ding-rong^{*}, XIAO Yong-qing, MA Yin-lian, LI Li, LIU Ying, ZHANG Cun,
GU Xue-zhu, DU Mao-bo, CHEN Chang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the changes in the residues of paeoniflorin and sulfur dioxide in Paeoniae Radix Alba after storage for one year, in order to provide the scientific basis for solving the sulfur fumigation problem in guaranteeing the quality and safety of herbal medicine paeoniflorin. **Method:** The residues of sulfur dioxide and paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba and samples suffocated by sulfur after storage for one year under the same conditions were determined. **Result:** The contents of paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba decreased significantly after being fumigated by sulfur and in the process of being sliced and decocted. The minimum content of paeoniflorin in the prepared slices of paeoniae Radix Alba was 2.805%, which was consistent with the requirement in *Chinese Pharmacopoeia* for no less than 1.6%. Sulfur dioxide residues were detected, with the maximum residue of 284.239 mg·kg⁻¹ in fumigated samples, which however was still lower than the requirement for no less than 400 mg·kg⁻¹ of sulfur dioxide residue, and would mostly lost during slicing, decoction and storage. **Conclusion:** Content of Paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba decreased significantly after being fumigated by sulfur. Sulfur dioxide residues greatly reduced during softening, slicing and decoction, suggesting that the sulfur fumigation technique could be reserved at present.

[Key words] Paeoniae Radix Alba; sulfur fumigation; paeoniflorin; sulfur dioxide residue; storage

[收稿日期] 20151130(003)
[基金项目] 中国中医科学院自主选题项目(2011LHXZ-03)
[通讯作者] ^{*} 于定荣,博士,助理研究员,从事中药制剂与炮制研究,Tel:010-84018690,E-mail:yudingrong0826@sina.com

白芍具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗等功效。主要含有芍药苷、氧化芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷等成分。其中有效成分芍药苷常作为白芍质量控制的指标成分,2015 年版《中国药典》(一部)将其作为白芍药材质量控制指标^[1]。白芍在加工和储存过程中,往往使用硫磺熏蒸;但硫磺熏蒸后中药材的性状多有改变,且熏蒸后中药材中残留的二氧化硫有可能对人体造成影响^[2]。现代研究表明,二氧化硫及亚硫酸盐会破坏维生素 B,影响生长发育,长期服用会导致胃肠道功能紊乱,损害肝脏,危害人体消化系统。亚硫酸盐还会引发支气管痉挛,引起支气管哮喘。尤其是近年来,硫磺熏蒸的滥用,造成了大量二氧化硫残留,不仅严重威胁人体健康,也对我国中药材的出口造成了很大影响。这已经引起社会及国家相关部门重视。

目前关于硫磺熏蒸中药的研究主要是对药材中有效成分的影响^[3-5]以及硫磺熏蒸工艺优选^[6]。笔者在白芍道地产区对白芍进行产地加工,按药农的方法用硫磺进行熏制,通过对一年储藏期间内白芍与硫磺熏蒸白芍药材及其饮片中药药苷与二氧化硫残留量的变化进行研究。该项研究为解决一直困扰中药材白芍质量与安全性的硫磺熏蒸问题提供科学依据。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(LC-20AT 泵,SPD-M20A 检测器,Empower 2 数据处理软件,日本岛津),IKA® RH basic 1 型磁力搅拌器(北京君合华瑞科技有限公司),氮气瓶(东方医用气体公司,纯度在 99.99% 以上);芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110736-201136),硫磺(中国石化茂名炼油化工股份有限公司,批号 20080218,工业用硫磺),碘滴定液(北京北纳创联生物技术研究院,批号 20121108A,浓度 0.050 01 mol·L⁻¹),可溶性淀粉(国药集团化学试剂有限公司,批号 20120405)。

三年生白芍,经中国中医科学院中药研究所炮制中心肖永庆研究员鉴定为毛茛科植物白芍 *Paeonia lactiflora* 的根,药材及饮片采集于安徽省亳州市谯城区谯东镇余集经产地加工制得;水为重蒸馏水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药材采收 秋季于白芍道地产区安徽省亳州市谯城区谯东镇余集采集白芍的根,洗净,除去头尾和细根,保留白芍药用部位。

2.2 白芍药材及其饮片供试品制备^[7] 将 2.1 项下白芍药用部位投入沸水中略煮,至透心,快速捞

出,再分别制备得去皮和不去皮药材,分别取出一部分,晒干,制备得无硫磺熏蒸未去皮药材和无硫磺熏蒸去皮药材。按照药农产地加工白芍的方法,将另一部分水煮后去皮和不去皮的白芍药材用硫磺熏蒸,再晒干,制备得白芍硫磺熏蒸药材供试品;同法,将一部分水煮后去皮白芍根用硫磺反复熏蒸,再晒干,制备得饱和硫磺熏蒸白芍药材;按照 2015 年版《中国药典》白芍项下规定方法,分别制备得硫磺熏蒸与不熏白芍饮片。

2.3 储藏时间的考察^[8] 将白芍与硫磺熏蒸白芍药材及其饮片用塑料袋包装,至于室温,通风、干燥和阴凉的地方。分别于 3,6,9,12 个月测定其水分、芍药苷含量及二氧化硫残留量。

2.4 水分测定 按 2015 年版《中国药典》附录 IX H 项下“烘干法”对白芍药材及其饮片进行水分测定,见表 1。白芍药材、白芍饮片经过 12 个月储藏后,其水分均低于 14%,符合 2015 年版《中国药典》白芍项下要求。

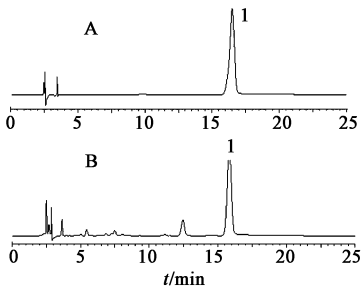
表 1 不同储藏时间下白芍药材及其饮片中水分测定
Table 1 Content of water of Paeoniae Radix Alba %

样品	0 月	3 月	6 月	9 月	12 月
硫磺熏蒸去皮药材	8.680	8.597	7.435	7.357	7.326
硫磺未熏去皮药材	9.320	8.307	8.281	7.875	7.854
硫磺熏蒸去皮饮片	8.610	8.509	7.665	7.209	6.970
硫磺熏蒸未去皮饮片	8.544	8.275	8.160	8.297	8.202
硫磺熏蒸未去皮药材	8.913	8.835	8.415	8.281	7.875
硫磺未熏未去皮药材	9.341	9.281	7.672	7.530	7.470
硫磺未熏去皮饮片	8.560	8.502	7.466	7.435	7.400
半成品未去皮饮片	8.684	8.606	8.193	7.626	7.500
半成品去皮饮片	8.601	8.575	8.393	8.234	7.846
硫磺未熏未去皮饮片	9.130	8.357	7.610	7.535	7.357
饱和硫磺熏蒸药材	9.220	9.123	8.860	8.305	7.338

2.5 芍药苷含量测定^[9] 参考 2015 年版《中国药典》白芍项下芍药苷含量测定方法。色谱条件:Kromasil 100-5C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),检测波长 230 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL,流速 1.0 mL·min⁻¹。理论板数按芍药苷峰计算不低于 2 000。在此条件下,芍药苷与其他组分均能较好地达到基线分离,HPLC 色谱图见图 1。

2.5.1 对照品溶液的制备 取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 64.6 μg 的溶液,即得。

2.5.2 供试品溶液的制备 取本品中粉(40 目)约 0.1 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇 35 mL,



A. 对照品;B. 供试品;1. 芍药苷

图 1 白芍样品 HPLC

Fig.1 HPLC of Paeoniae Radix Alba

超声处理(功率 240 W,频率 45 kHz)30 min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。以干燥品计算芍药苷含量。结果见表 2。

2.6 二氧化硫残留量测定^[1,10]

2.6.1 白芍药材及其饮片煎煮液供试品制备^[7]

分别取白芍药材及其饮片供试品约 10 g,精密称定,至于 500 mL 圆底烧瓶中,加水 250 mL 浸泡 0.5 h,回流煎煮提取 2 次(1.5,1.5 h),滤过,洗涤滤器,合并 2 次提取液,定容至 1 000 mL,作为供试品溶液备用。

2.6.2 白芍药材、白芍饮片及其煎煮液供试品中二氧化硫残留量测定 取白芍药材、白芍饮片以及 2.6.1 项下各煎煮液供试品,按 2015 年版《中国药典》附录 IX U 项下“二氧化硫残留量测定法”,以干燥品计算白芍药材、白芍饮片以及其饮片煎煮液中二氧化硫残留量,结果见表 3,4。

表 3 不同储藏时间下白芍药材及其饮片二氧化硫残留量测定(n=3)

样品	0 月	3 月	6 月	9 月	12 月
硫磺熏蒸去皮药材	154.924	87.539	61.877	43.393	30.166
硫磺未熏去皮药材	-	-	-	-	-
硫磺熏蒸去皮饮片	65.534	41.991	27.699	26.785	23.396
硫磺熏蒸未去皮饮片	69.044	59.261	38.361	33.941	30.495
硫磺熏蒸未去皮药材	183.439	91.274	69.775	67.709	37.138
硫磺未熏未去皮药材	-	-	-	-	-
硫磺未熏去皮饮片	-	-	-	-	-
半成品未去皮饮片	-	-	-	-	-
半成品去皮饮片	-	-	-	-	-
硫磺未熏未去皮饮片	-	-	-	-	-
饱和硫磺熏蒸药材	284.239	271.142	195.736	148.552	50.337

注:“-”表示未检出。

表 2 不同储藏时间下白芍药材及其饮片芍药苷质量分数测定

Table 2 Content of paeoniflorin of Paeoniae Radix Alba	%				
样品	0 月	3 月	6 月	9 月	12 月
硫磺熏蒸去皮药材	3.710	3.551	3.415	3.273	3.143
硫磺未熏去皮药材	3.885	3.754	3.605	3.362	3.282
硫磺熏蒸去皮饮片	3.242	3.236	3.027	2.900	2.805
硫磺熏蒸未去皮饮片	3.267	3.493	3.086	2.907	2.833
硫磺熏蒸未去皮药材	3.765	3.646	3.445	3.305	3.166
硫磺未熏未去皮药材	3.986	3.768	3.690	3.393	3.317
硫磺未熏去皮饮片	3.272	3.506	3.281	3.043	2.975
半成品未去皮饮片	3.876	3.752	3.584	3.325	3.257
半成品去皮饮片	3.869	3.728	3.548	3.312	3.233
硫磺未熏未去皮饮片	3.631	3.543	3.412	3.242	3.134
饱和硫磺熏蒸药材	3.603	3.539	3.333	3.142	3.056

3 讨论

白芍经硫磺熏蒸后其有效成分芍药苷含量显著性下降;且在软化、切片及储存过程中,芍药苷亦有不同程度损失。经过 12 个月储存后,其药材及饮片中芍药苷损失量分别为:硫磺熏蒸去皮药材损失 15.286 1%;硫未熏去皮药材损失 15.535 9%;硫磺熏蒸去皮饮片损失 13.489 0%;硫磺熏蒸未去皮饮片损失 13.264 6%;硫磺熏蒸未去皮药材损失 15.906 6%;硫未熏未去皮药材损失 16.790 0%;硫未熏去皮饮片损失 9.085 4%;半成品未去皮饮片损失 15.989 1%;半成品去皮饮片损失 16.437 5%;硫未熏未去皮饮片损失 13.692 1%;饱和硫磺熏蒸药材损失 15.166 8%;但熏制品中芍药苷最低含量仍高于 2015 年版《中国药典》规定的芍药苷含量不得少于 1.6% 的规定。

表 4 不同储藏时间下硫磺熏蒸白芍药材及其饮片煎煮液中二氧化硫残留量测定 (n = 3)

Table 4	Content of sulfur dioxide residue of sample decoctions (n = 3)					mg·kg ⁻¹
样品	0 月	3 月	6 月	9 月	12 月	
硫磺熏蒸去皮药材	34. 285	24. 491	19. 478	18. 912	10. 673	
硫磺熏蒸去皮饮片	23. 071	17. 519	15. 114	10. 962	10. 566	
硫磺熏蒸未去皮饮片	33. 342	20. 927	19. 019	14. 809	10. 741	
硫磺熏蒸未去皮药材	44. 425	35. 162	30. 856	14. 971	11. 202	
饱和硫磺熏蒸药材	56. 542	45. 756	41. 821	36. 723	18. 385	

白芍经硫磺熏蒸后会导致二氧化硫残留,其中饱和硫磺熏蒸白芍中二氧化硫残留量最高,为 284. 239 mg·kg⁻¹;但仍低于新增二氧化硫残留量检查项目限度“二氧化硫残留不得超过 400 mg·kg⁻¹”的规定;且在切片、煎煮及储藏过程中会逐渐减少。经过 12 个月储存后,其二氧化硫残留量损失量分别为:硫磺熏蒸去皮药材损失 80. 528%;硫磺熏蒸去皮饮片损失 64. 300%;硫磺熏蒸未去皮饮片损失 55. 833%;硫磺熏蒸未去皮药材损失 79. 754%;饱和硫磺熏蒸药材损失的最多,为 82. 291%。实验结果表明,经过一年的储存,白芍硫磺熏蒸品中二氧化硫残留量已经大部分损失。

目前关于硫磺熏蒸对中药材质量、环境以及对人体的影响,大多仅限于二氧化硫残留量的毒副作用报道,针对硫磺熏蒸的操作工艺、对中药材药效的影响、安全性以及临床配方服用等方面的系统、深入研究较少,硫磺熏蒸对中药材质量和药效的影响不清楚,但硫磺熏蒸作为一项传统的中药材产地加工技术,能确切地起到防腐、防霉、防虫蛀,并有利于干燥和增色作用,一直在民间沿用,特别是在边远的地区。

研究结果表明,白芍经硫磺熏蒸后直接制备中药提取物或制成饮片直接用于临床,其芍药苷含量仍然符合质量要求,而二氧化硫残留量已经大部分损失,大大降低了毒性。综合上述原因,笔者认为,白芍在产地加工过程中使用硫磺熏蒸技术现阶段有必要保留。针对中药材硫磺熏蒸问题,2011 年国家药典委员会组织专家进行的专题研讨会议也一致认为现阶段对于部分中药材的产地粗加工仍有必要保留采用硫磺熏蒸中药材的传统技术,并要正确认识

硫磺熏蒸后中药材残留的二氧化硫毒性问题。

本实验通过加工对白芍中芍药苷含量及二氧化硫残留量的影响研究,为探讨硫磺熏蒸对中药材白芍品质的影响及建立科学合理的白芍产地初加工与炮制方法提供了一定依据,也为解决一直困扰中药材白芍质量与安全性的硫磺熏蒸问题提供科学依据。

[参考文献]

[1] 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,2015:105.

[2] Branen A F. Antimicrobials in Foods[M]. New York: Marcel Dekker Inc,1985:191.

[3] 孟祥松,刘文苹,李军,等. 硫磺熏蒸时间对白芍中芍药苷含量影响[J]. 安徽医药,2010,14(11):1278-1279.

[4] 赵清,马晓莉,郝丽静,等. 硫磺熏蒸对菊花中有效成分含量影响研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(6):1418-1420.

[5] 庄志宏,毛克臣,陈志峰,等. 硫磺熏蒸前后当归中阿魏酸含量的比较研究[J]. 中国中医药信息杂志,2011,18(8):60-61.

[6] 吴利,梁晓燕,邓贤彬. 正交法优选山药硫磺熏蒸工艺[J]. 中国中医药,2005,3(3):56-57.

[7] 王秋梅,袁艳利,杨瑞玲. 正交试验法优选白芍的水提工艺[J]. 医学研究通讯,2004,33(11):55-56.

[8] 万颖,孙晓燕,田亚男,等. 不同贮藏条件对白芍品质的影响[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2984-2985.

[9] 朱如彩,蔡萍,李雅,等. 不同产地白芍 HPLC 指纹图谱及芍药苷和芍药内酯苷含量的比较研究[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(3):34-37.

[10] 王兆基. 中药材中二氧化硫的含量测定[J]. 中草药,2000,31(2):97-99.

[责任编辑 顾雪竹]