

中药中重金属和农药残留的研究

赵燕燕, 孙启时(沈阳药科大学中药系, 沈阳 110015)

摘要:从重金属和农药残留的危害, 主要污染途径和分析检测方法等方面对国内近十几年的研究进行了综述。

关键词:综述; 重金属; 农药残留

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1006-0111(2000)05-0272-03

随着中药事业的不断发展, 中药(天然药物)及其制剂在世界范围内防病、治病作用被重新认识, 提高中药制剂的内在质量, 制订合理的质控标准, 愈来愈受到人们的关注。在提高制剂内在质量方面, 不仅需对其有效成分(活性成分)的质和量进行有效控制。而且应对制剂中有毒、有害成分(杂质)予以必需的了解和限制。目前我国尚未制订中药材和中药制剂中重金属元素的质量标准和农药残留量的检测限量, 但国际上对此十分重视, 许多国家对进口中药材及其中成药中的重金属和农药残留的含量均有明确规定。这一问题已经受到我国药学工作者的重视, 本文对该问题的研究做一综述。

1 重金属元素的检测

1.1 重金属元素的危害及其主要污染途径

重金属元素的毒性作用主要是由于它们进入体内并与体内酶蛋白上的 SH 和 SS 键牢固结合。从而使蛋白质变性, 酶失去活性, 组织细胞出现结构和功能上的损害。例如铅主要损害神经系统, 造血系统, 血管和消化系统^[1]; 汞主要损害肾脏, 造成肾功能衰竭; 砷主要是扩张毛细血管, 麻痹血管舒缩中枢, 使腹腔脏器严重充血, 引起肝、肾、心等实质器官的损害^[2]。中药材中重金属的含量主要来源于栽培地的土壤、空气和水, 其中工业“三废”的污染及地质有害元素背景又是最重要的因素^[3]。中药制剂中重金属的存在主要来源于中药材、辅料、提取溶剂、工艺设备、接触器皿等。另外中药的矿物药中有一些药物含有这些元素, 例如铅粉, 铅丹, 密陀僧中含有铅, 朱砂中含有汞, 雄黄中含有砷, 入药后易引起重金属含量超标。

1.2 重金属元素的含量分析方法

1.2.1 比色法 中华人民共和国药典附录^[4]。

1.2.2 紫外分光光度法:该法是利用重金属元素与试剂反应后显色在紫外光下有吸收的原理来测定重金属的含量。

何跃华等参考日本药局方配制硫化钠溶液, 在 pH 3.0~3.5 之间测定了清宫寿桃丸中重金属的含量, 在此 pH 值条件下, S²⁻能与铅、锌、汞、镉、锑等 10 余种重金属离子生成化合物而显色, 方法可靠, 重现性好, 平均回收率 97.204%, RSD=1.48%^[5]。

詹世清用 30% 碘化钾溶液 1.2ml 和 0.005% 结晶紫溶液 2.0ml 作为显色体系检测中药中的微量铅。据文献介绍该显色体系对铅的选择性较好, 锌、铝、钙、镁、铋、硅、铬、钴等均不干扰测定。作者又加入 1% 明胶 1.5ml 作为保护胶体, 由于胶束增溶作用, 显色体系稳定性明显增加^[6]。

李耀根等将药典规定检砷第二法中的导气管硅烷化, 并把吸收液换为新银盐的吸收液, 用紫外分光光度法测定药品中砷的含量, 该法准确、灵敏度高、试剂低毒, 无需改变药典规定的装置和分析方法^[7]。

程光等利用在表面活性剂聚乙烯醇(PVA124)存在下, 在硝酸介质中, 汞与碘化物形成络阳离子后与罗丹明 B(RhB)形成可溶性多元离子缔合物, 在 595nm 处有最大吸收来测定儿科制剂王氏保赤丸中汞的含量。与药典法相比, 结果无显著性差异^[8]。

1.2.3 原子吸收分光光度法。此法又分为冷原子吸收法和石墨炉原子吸收法, 汞的含量测定常用冷原子吸收法。主要是利用汞在常温下蒸气压较高和在空气中不易氧化的特点, 将样品消化后还原生成 Hg, 用载气将汞蒸气吹出通过石英吸收池, 汞蒸气对汞空心阴极灯的辐射产生吸收, 从而达到定量分析的目的。

周国华等利用此法测定了六味地黄丸、乌鸡白凤丸、大活络丹中汞的含量, 检测限为 0.8ng/ml, 以东南亚进口标准衡量(Hg<0.5ppm), 大部分超标^[9]。

顾丽贞等利用此法测定了健脾益肾冲剂等 5 种中成药中铅、镉、汞、砷的含量, 并与大米等 6 种常见食品的标准值进行比较, 其含量大多十分接近, 除抗癌消炎胶囊中铅的含量明显超标外, 其余均在安全范围内^[10]。

茅以军等利用此法测定了贵州杜仲中铅、砷、汞的含量, 发现了药材中重金属的含量与栽培土壤中该元素的含量呈正相关关系, 矿区栽培的杜仲中铅、砷、汞的含量明显高于非矿区, 建议有关部门合理选择种植基地^[11]。

石墨炉原子吸收法是利用石墨管高温下使样品原子化通过炉内光路产生吸收的原理来测定, 由于汞的高挥发性和炉中杂质的干扰, 以及炉内环境温度不均匀, 造成原子在炉内光路上停留时间长短不一引起吸收信号的差异以至于灵敏度低、重现性差。顾萱等采用平台技术和

基体改进技术解决了这一问题,根据 L'VOV 理论,在石墨管内放置一薄片石墨平台, L'VOV 平台是靠石墨管热辐射加热,平台升温滞后于石墨管,当样品在平台内原子化时,管内温度已达到最高并保持恒定,这就使原子在光路中的停留时间趋于一致。又选择了钨、镍混合剂作为基体改进剂,使汞分析的重现性和灵敏度都甚理想^[12]。顾堂等又采用 $Pd^{2+} - Mg(NO_3)_2$ 作基体改进剂,测定了罗汉果,沙棘口服液中砷、铅的含量,使砷、铅的灰化温度提高了 1000℃,提高了砷铅测定的稳定性^[13]。

黄隽等以硫酸镍作基体改进剂,测定了局方至宝散,安宫牛黄散等五种组方中含有雄黄的中药制剂中的砷含量,实验表明,该法灵敏度高于药典中的砷量法,以及文献报导的氧瓶燃烧法和 DDC-Ag 比色法^[14]。

1.2.4 AFS、ICP-MS 分析技术

将样品研细过 40 目筛,精密称取样品适量(0.5-1.0)g 置烧杯,分别加入酸性氧化剂混合液(硝酸、盐酸、高氯酸的混合,比例视样品消化分解难易与被测元素而调节)放置过夜,次日于电加热板上加热分解至浅黄色澄清液后取下,供试品应制成酸度为 2% 酸性介质溶液,分别取砷、汞、铅标准品配制成系列标准液测定条件绘制标准曲线,取供试品适量,设定 AFS、ICP-MS 分析条件,用该法共测定了 14 种出口中成药中微量有害元素的含量,用世界卫生组织、日本、新加坡等国家规定的有害元素标准进行衡量测定结果多数符合要求,只有 4~5 个品种超限,用美国 FDA 标准判定仅一个品种符合要求^[15]。

1.2.5 FI-HG-ICP-AES 在线测定

喻昕等将 FI-HG(流动注射进样-氢化物发生)技术与多道 ICP-AES 仪器联用,弥补了常规的 HG-ICP-AES 技术存在的试剂试样消耗量大,分析效率低,基体干扰较严重,大量氢气的导入引起 ICP 的不稳定及分析信号的记忆效应的不足,该灵敏、快速、高速、试样试剂消耗少及同时在线测定砷和汞的优点,该法可以在同一条件下同时测定砷和汞,检出限达亚 $\mu\text{g/L}$ 的水平,但取样量仅为 80 μl ,按 IUPAC 定义计算出砷、汞的检测限分别是 0.8 $\mu\text{g/L}$ 和 0.7 $\mu\text{g/L}$ ^[16]。

2 农药残留量的检测

2.1 农药的危害及其主要污染途径

农药的使用,对作物的稳产、高产、优质有着重大的意义,但长期广泛地使用农药也带来了作物产品上的农药残留问题,中药材作为一种特殊食品为患者及体弱者所服用,服用时间长,更易造成蓄积中毒,农药对人体的危害主要表现为神经毒性。中药及其制剂中的农药残留主要原因是农药施用时机和季节不合理,而有机氯农药虽然早已被禁用,但由于该农药以前长期广泛使用,又不易分解,在土壤中长期残留,也对中药材造成污染。再者中药材在仓储过程中为了防虫蛀而喷洒农药也是主要的污染途径。

2.2 农药残留的分析方法

农药的残留性是指随着农药的使用,农药成分的物质及其转化产物残留于农作物和土壤中的情况,因此当检测药材中农药的残留量时,不仅要考虑农药的有效成分,而且也要考虑农药所含的所有成分以及这些成分在植物体内经化学变化而生成所有物质^[17],例如有机氯农药中的六六六和 DDT 各有四种异构体。

农药的检测的主要依赖于 TLC 和 GC 法,前者简便易行,适用于基层,后者灵敏度高。

2.2.1 薄层色谱法

陈瑞华等采用薄层半微量法对有机氯农药进行检测,方法如下:

应用普通硅胶 G 和氧化铝制备层析板,原药材过 40 目筛的粉末 5g,加入正己烷-丙酮(8:2)混合,浸渍 16-18 小时,取上清液 10ml,浓缩至 1ml 备用。浸膏或胶类药经粉碎加水 16ml 溶解,滴加 16ml 丙酮,再加 15ml 正己烷和 14% 硫酸钠水溶液 30ml 提取 3 次,合并正己烷提取液,浓缩至 1ml 备用,以上二种备用液再经纯化以供试液,正己烷展开一次,正己烷-氯仿二次展开,喷显色剂,紫外灯照射至斑点显色灵敏度为 0.01~0.1 μg ^[18]。

徐宏喜等运用薄层酶抑制法对常用有机磷农药敌百虫在中药中的残留进行了实验研究。酶抑制法多用于粮食农药残留量分析,它是利用某些有机磷农药对胆碱酯酶具有抑制作用,且酶的基质(β -醋酸萘酯)水解产物能与特定显色剂(固兰 B 盐)结合呈紫色反应原理,在已有农药展层的薄层板上,其农药斑点部位因酶的活性被抑制,基质不被水解,不引起呈色反应,能在薄层板上衬出无色斑点,根据斑点大小,经扫描测定残留量。该法进行了加样回收率试验,最小检出量 0.008 μg 。灵敏度高、专一性强^[19]。

2.2.2 气相色谱法

张炜等采用气相色谱法测定了几种常用治疗感冒的中成药中有机氯农药的残留,供试液提取、纯化所用试剂与陈瑞华相同,但提取纯化方法不同,该法检测灵敏、检测限与规定的农药残留限量低 3 个数量级,达 ng/g 水平,结果表明被测中成药中的残留量不但低于我国规定的粮食作物的残留限量 BHC、DDT 均为 0.3 $\mu\text{g/g}$,而且低于联合国粮食组织规定的加工粮食中的残留限量(BHC 为 0.3 $\mu\text{g/g}$, DDT 为 0.2 $\mu\text{g/g}$)^[20]。

韩桂茹等与日本学者联合采用气相色谱法对金银花、枸杞子等五种中药材和人参健脾丸、槟榔四消丸两种中成药中的有机磷进行了测定,以 13 种有机磷农药标准品进行对照,样品采用丙酮提取,在 NaCl 存在下二氯甲烷-苯萃取,提取液浓缩,经弗罗里硅土柱和活性炭色柱处理后,上不同型号两台色谱仪气相色谱柱(OB-5、OB-1)和 QF-1 两种色谱柱,均未检出。这可能与有机磷农药化学结构中多有酯键,不稳定,残留期短有关^[21]。

2.2.2 毛细管气相色谱法:

以往人们采用填充色谱柱气相色谱法分析农药残留,由于柱效太低,使某些组分不能得以完全分离,采用毛细管气相色谱法有效的解决了这一难题。在中药材以及其它植物有机氯农药残留分析中,常使用的毛细管柱多为非极性和弱极性的,长度 25~30m,口径 0.25mm~0.32mm,固定液有 OV-1701, SE-54, PB-701 等。

王元鸿等以环氧七氯为内标,选用 SE-54 弹性毛细管石英柱,测定人参中有机氯农药含量,使有机氯农药六六六的四种异构体, DDT 的四种异构体、六氯苯、五氯硝基苯、七氯、氯甲桥萘等 12 种欲测组分与内标之间以及与非测组分之间均达到基线分离,检测结果表明,人参须中有机氯农药残留量远较人参其它部位高^[21]。

袁兰等采用的是 OV-1701 石英毛细管柱,也成功地分离了人参中有机氯农药五氯硝基苯和四种六六六的异构体^[23]。

王会丽等建立了西洋参中有机氯农药残留量的气相色谱的分析方法,样品以丙酮提取,在 NaCl 存在下,以二氯甲烷进行液分配,提取液以浓 H₂SO₄ 净化,采用 SE-54 弹性石英毛细管柱, GC-ECD 检测有机氯农药的残留量,最低检测浓度为 3.2 × 10⁻² ng/g ~ 1.4 ng/g, 添加回收率在 80% ~ 133.18%, 并对北京及东北产西洋参药材进行了实际残留量测定,发现六六六、DDT 在不同产地的药材中均有检出,其中东北产西洋参中六六六残留总量为 196.9 35ng/g, DDT 残留总量为 170.54ng/g, 远远高于国家有关人参中六六六及 DDT 的残留限量(六六六 < 0.1μg/g, DDT ≤ 0.07μg/g) 在被检药材中, β-BHC 的残留量最

高,目前我国种植和贮存中药材用来防治其病虫害所选择的农药品种,施用方法,残留限量等问题尚无法律性规定^[24]。

高天兵等选用 PE-5 石英毛细管柱,程序升温测定了中药材中拟除虫菊酯类农药残留量,该法灵敏度高,选择性强,拟除虫菊酯类农药残留量检测报道很少,作者建立了一种药材前处理使样品净化并富集拟除虫菊酯类农药。

综上所述,重金属和农药残留问题是影响中药现代化和影响中药出口的重要问题,建立灵敏、可靠、规范的检测标准已势在必行,研究发现,下述问题值得注意:

1. 2000 版药典对一些药物规定了检查有机氯农药的残留量,但有机氯农药早已被禁止使用,其它种类的农药在中药中残留检测的研究还很少。

2. 中药生产厂家工艺参差不齐,很多厂家生产工艺落后,生产过程中交叉污染严重,是引起重金属超标的主要因素之一。为了使中药与中成药早日与国际接轨,各新药研制单位和生产厂家必需提高认识,加强制药过程中的全程质量控制,严把原料关,设备关,环境关和检验关。

3. 中药材的种植基地应选择远离矿区污染少的地带,种植期间应合理施用农药,药材炮制,贮存过程也应规范管理,防止进一步污染。

4. 使重金属和农药残留检测标准早日科学化、仪器化、与国际接轨,为中药及其制剂的出口创造方便条件。

参考文献(略)

收稿日期: 2000-08-28

红豆杉的生物工程研究进展

一如贤, 王 昊, 许铁峰, 张汉明(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要: 红豆杉中的紫杉醇为有效的抗肿瘤活性成分,但一般的提取、合成方法不仅得率很低,而且对资源的需求过大,因此需要找到更好的方法取而代之。本文综述国内外近年来有关通过细胞生物工程生产紫杉醇的方法,包括细胞培养,农杆菌转化和内寄生真菌生产,现对这些方法的研究进展进行总结。

关键词: 红豆杉; 紫杉醇; 细胞培养; 农杆菌转化; 内寄生真菌

关键词: 植物培养物; 生物转化; 糖基化; 外源化合物

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2000)05-0274-03

紫杉醇(taxol)是 70 年代由 Wani 等^[1]从短叶红豆杉 *Taxus brevifolia* 树皮中提取出来的具有独特抗癌作用的天然产物,被认为是治疗卵巢癌的首选药物,是一种非常具有发展前途的抗癌新药。到目前为止,发现紫杉醇只存在于裸子植物红豆杉科的红豆杉属 *Taxus L.* 和澳洲红豆杉属种中。由于红豆杉数量稀少,生长缓慢,紫杉醇的含量又非常低,所以靠砍伐树木提取的方法远不能满足人

们对紫杉醇日益增长的需要。

迄今为止,人们已从各个方面研究了紫杉醇的来源问题。全合成,半合成和栽培法虽然取得了一定的成果,但其结果不能令人满意。我们需要高效、稳定、简便的方法来取得紫杉醇,在这方面较好的方法主要有细胞培养,农杆菌转化和内寄生真菌生产等,本文将综述这几种方法近年来的研究进展。