

turmeric powder by pH-zone-refining counter-current chromatography [J]. *J Liq Chromatogr Related Technol*, 2000, 23(14): 2209-2218.

- [17] Weisz A, Mazzola E P, Matusik J E, et al. Preparative separation of isomeric 2-(2-quinolinyl)-1H-indene-1,3(2H)-dione momosulfonic acids of the color additive D&C Yellow

NO. 10 (Quinoline Yellow) by pH-zone-refining counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 923(1-2): 87-96.

- [18] Cao X L. *The Application of High-speed Countercurrent Chromatography* (高速逆流色谱分离技术及应用) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.

中药中农药、重金属残留的分析方法概述

石世学, 聂万达, 潘力佳*

(天津中新药业集团股份有限公司, 天津 300457)

目前, 随着中药事业的不断发展, 中药产品在世界范围内防病、治病的作用被重新认识, 提高中药产品的内在质量、制定合理的质控标准愈来愈受到人们的关注。在提高中药产品内在质量方面不仅要对其有效成分(活性成分)的质和质量进行有效的控制, 而且应对中药产品中有毒、有害成分进行限量控制。中药中的农药、重金属残留和污染严重影响了中药产品的内在质量。本文就中药中农药、重金属残留的分析方法进行综述。

1 农药残留的分析方法

1.1 气相色谱法: 由于具有操作简便、分析速度快、分离效能高、灵敏度高以及应用范围广等特点^[1], 其仍是目前农药残留测定的主要分析手段, 尤其在有机氯和有机磷农药的分析领域中占绝对优势。王会丽等^[2]采用气相色谱-电子捕获检测器法检测西洋参中的有机氯农药(六六六、DDT 异构体及七氯、艾氏剂)的残留量, 最低检测浓度为 0.032~1.4 ng/g, 回收率为 80%~133.18%。张曙明等^[3]采用气相色谱-氮磷检测器法对中药中的 8 种有机磷农药残留量进行了测定, 其回收率为 74.96%~116.8%, 检出限为 0.011~0.336 pg。梁析等^[4]采用气相色谱-离子化检测器法对黄芪中的氨基甲酸酯农药(呋喃丹、西维因、甲霜灵)残留量进行了测定, 当添加水平为 2×10^{-5} 时, 回收率为 89.33%~98.18%, 线性相关系数 r 为 0.997 0~0.998 5, 检测限可达 19.0 pg。楼健等^[5]采用气相色谱-火焰光度检测器对中药材天花粉中的 8 种有机磷农药残留量进行了测定, 最低检测量为 0.002 0~0.016 5 ng。

1.2 高效液相色谱法: 是以液体作为流动相的一种色谱方法, 适合于分析热不稳定性及强极性农药及其代谢产物。梁析等^[6]采用高效液相色谱测定中药材黄芪中有机氮农药(涕灭威、呋喃丹、西维因、甲霜灵)残留量, 当添加水平为 7×10^{-8} ~ 7×10^{-7} 时, 回收率为 81.7%~95.1%, RSD 为 3.3%~6.4%, 检出限为 1.2×10^{-11} ~ 5.3×10^{-10} , $r = 0.999 9$ 。Trajkovska 等^[7]采用固相萃取-高效液相色谱/二级

管阵列检测器检测葡萄酒中的特丁津、敌草胺、灭菌丹和亚胺硫磷农药, 检测限为 3.8~4.6 ng, 定量限为 12.7~15 ng。

1.3 气相色谱-质谱法: 随着质谱技术的发展, 质谱法已成为农药残留分析的有效手段, 用色谱保留时间和质谱指纹数据对化合物进行分析, 最大限度地保证了分析的可靠性。李拥军等^[8]采用微量化学法和固相萃取技术, 用丙酮-正己烷(1:1)萃取, 活性炭和中性氧化铝小柱净化, 用气相色谱-质谱法可同时测定茶叶中 6 种拟除虫菊酯类农药的残留量。方法回收率在 84.6%~115.1%, RSD 为 3%~7%, 最低定量检出质量分数为 0.010~0.20 mg/kg。孙秀燕等^[9]采用气相色谱法-正化学电离-质谱法对中药材中有机磷农药残留进行了检测, 应用选择离子监测技术, 排除了杂质的干扰, 提高了分析灵敏度。

1.4 高效液相色谱-质谱法: 高效液相色谱及大气压电离质谱主要用来分析低浓度、难挥发、热不稳定性及强极性农药, LC-MS 先后产生 4 种接口技术: 热喷雾、粒子束、电喷雾电离、大气压化学电离。潘云海等^[10]报道, 采用高效液相色谱-大气压化学电离质谱快速分析水中痕量有机磷农药二嗪农与啶硫磷, 检出限分别达 0.09、0.1 ng。Granby 等^[11]采用液相色谱串联质谱(LC-MS-MS)分析氨基甲酸酯类及其相关极性农药, 当添加水平为 0.02、0.04 和 0.20 mg/kg 时, 回收率为 70%~120%。

1.5 超临界流体色谱: 是以超临界流体作为流动相的色谱分离检测技术, 常用于分析不利于气相色谱分析的一些极性和吸附性强、热稳定性差、难挥发的组分, 分析所需时间一般比高效液相色谱快, 可以和许多高效液相色谱难以使用的检测器联用。超临界流体色谱虽不能代替气相色谱和高效液相色谱, 但可弥补它们的不足。Jablonska 等和 Murugaverl 等分别报道了用毛细管超临界流体色谱-质谱测定有机氯和氨基甲酸酯类农药的残留, Mol 等用超临界流体色谱连接火焰光度检测器分析番茄和洋葱中的乐果、马拉硫磷等^[12]。

1.6 免疫分析法: 是利用抗原、抗体的特异性免疫反应对微

收稿日期: 2006-04-12

基金项目: 国家科技攻关课题(50 种中药中有害残留物检测方法)与限量标准研究, 2001BA701A57)

作者简介: 石世学(1978—), 男, 内蒙古人, 硕士学位, 现主要从事残留物检测分析研究工作。 E-mail: shishixue@163.com

* 通讯作者 潘力佳 Tel: (022)27020916 E-mail: panlijia@yahoo.com.cn

量特异性抗原物质进行检测的分析手段。农药残留免疫分析方法建立包括待测物选择、半抗原合成、人工抗原合成、抗体制备、测定方法建立、样品前处理方法和方法评价。免疫分析法具有特异性强、灵敏度高、方法简捷、分析容量大、检测成本低等特点,一般不需要贵重仪器,可简化或省去前处理步骤。Ercegovich等^[13]首先建立了对硫磷的放射免疫分析方法,对人的血液和莴苣叶的检测限为10~20 ng/mL。

1.7 生物传感器测定法:生物传感器通常是指由一种生物敏感部件与转换器紧密配合,对特定种类化学物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应的分析装置。传感器的生物敏感层与复杂样品中特定的目标分析物(如酶与底物、抗原与抗体、外源凝集素与糖、核酸与其互补片段)之间的识别反应会产生一些物理化学信号(如光、热、声、质量、颜色、电化学等)的变化,这些变化通过不同原理的传感器(如光敏管、压电装置、光极、热敏电阻、离子选择性电极等)转换成第二信号(通常为电信号),经放大后显示或记录。Andreou等^[14]采用光纤纤维生物传感器分析了西维因与敌敌畏农药,它们的检测限分别为108.5、2.2 $\mu\text{g/L}$,方法的准确度为94.9%。Abad等^[15]采用压电晶体生物传感器测定有机磷和氨基甲酸酯类农药,检测是基于农药化合物对固定于石英晶体表面的乙酰胆碱酯酶活性的抑制效应,检测限范围为 $3\times 10^{-6}\sim 1.7\times 10^{-4}$ 。

2 重金属残留的分析方法

中药中的重金属残留主要为砷、汞、铜、铅、镉、铬、锑、镍等金属,现将一些主要的分析方法介绍如下。

2.1 紫外分光光度法: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量。楼小红等^[16]用紫外分光光度法测定了白芍中重金属量。结果表明,杭白芍重金属量为15.43 $\mu\text{g/g}$,亳白芍为18.47 $\mu\text{g/g}$ 。吴巧凤^[17]采用紫外分光光度法测定元胡生品与醋制品的重金属量,分析波长为214 nm。结果为生元胡重金属量为140.01 $\mu\text{g/g}$,醋制元胡为29.15 $\mu\text{g/g}$,线性范围0~50 μg ,平均加样回收率为100.75%。

2.2 原子吸收光谱法:是以特定波长的共振线作为辐射源,通过被测样品产生的原子蒸气对特定波长共振线产生的吸收,与样品所含某种元素浓度存在一定的定量关系,由此求得所含重金属的量。陈顺天等^[18]采用原子吸收光谱法,测定植物性食物中锌、铜、锰、镉、铁、铅元素的量;平均回收率为锌108%,铜99%,铁118%,锰98%,镉97%,铅98%,RSD为锌2.02%,铜11.24%,铁12.41%,锰1.27%,镉6.90%,铅7.03%。

2.3 原子荧光光谱法:是将样品溶液在火焰或非火焰中原子化产生的基态原子,用光源照射激发,当受激原子返回低能态时,发出原子荧光,通过检测装置测定原子荧光强度从而测定样品中待测元素的方法。王爱平^[19]采用一次微波消解,原子荧光法测定中药材中重金属砷、铅、汞的量,样品中砷、铅汞检出限分别为53、31、6 $\mu\text{g/kg}$,RSD<3%。乔凤霞等^[20]采用L-半胱氨酸做预还原剂,建立了氢化物发生原子

荧光光谱法测定丹参中砷、锑的方法;研究了酸度、硼氢化钾浓度、L-半胱氨酸浓度等条件对原子荧光强度的影响。结果表明,在最佳工作条件下,砷、锑检出限分别为0.09和0.03 $\mu\text{g/L}$;在取样量为1.000 g时,砷、锑的检出限分别为1.13和0.38 ng/g。本方法操作简单、灵敏度高、分析速度快,适用于植物药材及其制剂中痕量砷、锑的检测。

2.4 电感耦合等离子体光谱法:该方法的原理,是在任何高温气体中,如有1%以上的原子或分子被电离,则气体即有相当大的导电率,这种由自由电子、离子和中性原子或分子组成的在总体上呈电中性的气体,即为等离子体。在中药微量有害元素测定中,这种方法常被采用,在近年来出现了电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)、电感耦合等离子体光谱-质谱(ICP-MS)等方法。顾永祚等^[21]采用ICP-AES法分析川附子中微量重金属元素,测定样品中14个元素的相对标准偏差在0.2%~10.5%,方法的精密度较好。梁淑敏等^[22]采用ICP-AES法测定人参粉中的有害重金属,其回收率分别为砷96%,铅96%,镉98%,锡98%,铜99.8%,汞96%。Dolan等^[23]采用ICP-MS法分析95种饮食增补剂中砷、镉、汞、铅的量。

3 结语

中药是我国传统的出口商品之一,但农药残留与重金属污染等问题已成为我国中药走向世界的“瓶颈”性问题。为了尽快打破世界贸易技术壁垒,保护消费者的身体健康,使我国中药早日走向世界,应该尽快建立和完善包括农药残留与重金属在内的有害残留物质量控制体系。

本文就近年来发展起来的农药残留与重金属检测方法及其在中药质量控制中的应用进行了简要概述,包括农药残留测定方法:气相色谱法、高效液相色谱法、气相色谱质谱联用法、液相色谱质谱联用法、超临界流体色谱法、免疫分析法、生物传感器测定法等;重金属测定方法:紫外分光光度法、原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体光谱法等。

References:

- [1] Zhao D J. The analytical investigation progress of pesticide residues in Chinese traditional medicine [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2002, 19(2): 26-28.
- [2] Wang H L. GC-ECD Determination of residual organochlorine pesticides in American Ginseng (*Panax quinquefolium*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(6): 381-384.
- [3] Zhang S M. Determination of organophosphorous pesticide residues in medicinal plants and traditional Chinese preparations by capillary gas chromatography [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 1999, 18(5): 15-17.
- [4] Liang Q. Determination of methylcarbamate pesticides residue in Chinese traditional medicine *Radix Astragali* by capillary gas chromatography [J]. *Instrum Anal* (分析测试学报), 1999, 18(2): 66-68.
- [5] Liu J. Capillary gas chromatography for determining the residues of multiple organophosphorus pesticides in *Radix Trichosanthis* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, (23): 61-63.
- [6] Liang Q. Determination of organonitrogen pesticides residue in Chinese medicinal crop *Radix Astragali* by high performance liquid chromatography [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2000, 19(2): 25-28.
- [7] Trajkovska V. Solid-phase extraction and HPLC/DAD for the determination of some pesticides in wine [J]. *Anal Lett*, 2003, 36(10): 2291-2302.

- [8] Li Y J. Determination of pyrethroids pesticides multi-residues in tea by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, 30(7): 865-868.
- [9] Sun X Y. Determination of organophosphorus pesticide residues in Chinese traditional medicine by GC-PCI-MS [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2003, 22(3): 35-38.
- [10] Pan Y H. Rapid analysis of trace organophosphorus pesticides in water by high performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2000, 28(6): 666-671.
- [11] Granby K. Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 520(1/2): 165-176.
- [12] Legang J. New development in determination of food pesticide residues [J]. *Food Sci*, 2002, 23(3): 148-152.
- [13] Ercegovich C D, Vallejo R P, Getting R R, et al. Development of a radio-immunoassay for parathion [J]. *J Agric Food Chem*, 1981, 29: 559-563.
- [14] Andreou V G, Clonis Y D. A portable fiber-optic pesticide biosensor based on immobilized cholinesterase and sol-gel entrapped bromocresol purple for in-field use [J]. *Biosens Bioelec*, 2002, 17(1-2): 61-69.
- [15] Abad J M, Pariente F, Hernandez L, et al. Determination organophosphorus and carbamate pesticides using a piezoelectric biosensor [J]. *Anal Chem*, 1998, 70(14): 2848-2855.
- [16] Lou X H, Wu Q F. Study on determination of heavy metal elements in *Paeonia lactiflora* by UV method [J]. *Guangdong Trace Elem Sci* (广东微量元素科学), 2004, 11(1): 38-40.
- [17] Wu Q F. Determination of heavy metals in *Corydalis yanhushuo*. W. T. Wang and its acetic acid procession by UV method [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2002, 19(5): 401-403.
- [18] Chen S T. Using flame atomic absorption to determine trace elements of heavy metals in vegetative samples [J]. *Mod Sci Instrum* (现代科学仪器), 1999, (3): 30-32.
- [19] Wang A P. Determination of the contents of As, Pb and Hg in Chinese medicinal materials by microwave-digestion and atomic fluorescence spectrometry [J]. *Res Pract Chin Med* (现代中药研究与实践), 2003, 17(1): 26-28.
- [20] Qiao F X. Simultaneous determination of trace arsenic and antimony in root of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry [J]. *J Hebei Univ; Nat Sci* (河北大学学报: 自然科学版), 2004, 24(2): 163-167.
- [21] Gu Y Z. Determination of micro heavy metal elements in *Radix Aconiti lateralalis preparata* of Sichuan origin by ICP-AES [J]. *Sichuan Envir* (四川环境), 1999, 18(1): 1-4.
- [22] Liang S M. Determination of harmful heavy metals in powders of *Panax ginseng* [J]. *Chem Adhesion* (化学与粘合), 2003 (4): 205-206.
- [23] Dolan S P. Analysis of dietary supplements for arsenic, cadmium, mercury, and lead using inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(5): 1307-1312.

白藜芦醇抗肿瘤作用机制的研究进展

刘宏胜

(天津市第一中心医院, 天津 300192)

白藜芦醇(resveratrol)是1940年Takaoka从毛叶藜芦中分离出来的一种多酚类化合物, 化学名为芪三酚(3,5,4'-三羟基-均二苯代乙烯)。它是许多植物受到真菌感染、紫外线照射或病理状况下产生的一种抗毒素。70多种天然植物中含有白藜芦醇及其苷, 包括藜芦、决明、虎杖、葡萄、桑子、花生、凤梨等。葡萄皮中的量最高, 为50~100 $\mu\text{g/g}$; 红葡萄酒中的量为1.5~12 mg/L ^[1]。研究表明白藜芦醇不但具有抗血栓、抗突变、抗氧化、抗炎等作用, 而且具有抑制肿瘤的作用^[2], 本文就白藜芦醇的抗肿瘤作用机制进行综述。

1 促进细胞凋亡

细胞凋亡是细胞自身调节的主动性死亡过程, 它不引起炎症反应, 机体不会因此发生不良反应, 因而细胞凋亡是肿瘤治疗研究的一个重要领域。白藜芦醇以诱导肿瘤细胞凋亡的方式抗肿瘤无疑显示了其在肿瘤治疗中的潜在应用价值。

研究发现白藜芦醇可促进多种肿瘤细胞凋亡。唐旭东等^[3]报道白藜芦醇诱导鼻咽癌细胞CNE-2Z凋亡过程中伴有caspase-3的活化。实验中用不同浓度的白藜芦醇处理CNE-2Z细胞, Western-blot检测到caspase-3的酶元减少, 半定量RT-PCR发现caspase-3的mRNA水平呈浓度依赖性的升高($P < 0.01$), caspase-3的活性也呈浓度依赖性($P < 0.01$)。刘宏胜等^[4]报道采用不同浓度白藜芦醇处理C6

胶质瘤细胞和TJ905人脑恶性肿瘤细胞, MTT检测结果表明白藜芦醇对C6和TJ905细胞具有抑制作用, 并呈时间-剂量依赖性。

近年来发现线粒体在白藜芦醇诱导的细胞凋亡过程中亦起重要作用。已发现白藜芦醇能通过增加线粒体、促进线粒体Cyt c释放、引起线粒体通透性改变, 以及线粒体膜的极化和caspase-9的活化等途径而引起多种细胞凋亡^[5,6], 并能通过一个神奇的线粒体途径诱导CEM-CTH₂细胞凋亡^[7]。白藜芦醇还可通过p53依赖、NF- κ B等其他途径诱导细胞凋亡^[8,9]。

周海波等^[10]研究发现不同浓度的白藜芦醇对胃癌细胞均有明显的抑制作用, 且呈时间-剂量依赖性。进一步证实诱导细胞凋亡是白藜芦醇杀伤胃癌细胞的作用机制之一。Bcl-2和bax的比率决定了细胞凋亡的发生与否。研究结果表明, 白藜芦醇可使胃癌细胞的bcl-2 mRNA表达水平和蛋白表达水平下调, 而对bax则上调其mRNA表达水平和蛋白表达水平, 从而使bcl-2和bax的比率下降, 这可能是白藜芦醇诱导胃癌细胞凋亡的分子机制之一, 即通过下调Bcl-2的表达和上调bax的表达而实现。

Lin等^[11]研究发现白藜芦醇对前列腺肿瘤细胞具有促凋亡活性, 而对正常细胞无损伤。研究表明, 白藜芦醇能引起