

· 化学与分析 ·

松杉灵芝 29 种微量元素分析

吴方方¹, 汪鋆植^{1*}, 王绍柏², 廖照江¹, 张巧银¹, 罗友成¹

(1. 天然产物研究与利用湖北省重点实验室(三峡大学)/湖北省土家族医药研究所, 湖北 宜昌 443002;
2. 三峡旅游职业技术学院, 湖北 宜昌 443100)

[摘要] 目的:分析松杉灵芝微量元素含量,为松杉灵芝用药安全提供依据。方法:采用电感耦合等离子体质谱仪测定松杉灵芝中 29 种微量元素的含量。结果:松杉灵芝菌盖中重金属元素 Pb 含量为 $(4.21 \pm 0.29) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cu 含量为 $(12.55 \pm 1.12) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, As 含量为 $(1.26 \pm 0.08) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cd 未检出。松杉灵芝菌柄中重金属元素 Pb 含量为 $(3.63 \pm 0.04) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cu 含量为 $(16.59 \pm 1.24) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, As 含量为 $(1.58 \pm 0.05) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cd 未检出。松杉灵芝菌盖中 Al, Fe, Zn, Mn 含量比赤芝菌盖高。结论:松杉灵芝中重金属元素 Pb $< 5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cd $< 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cu $< 20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, As $< 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 符合药用植物及制剂进出口绿色行业标准的限量标准。

[关键词] 松杉灵芝; 赤芝; 微量元素; 含量

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0035-04

[doi] 10.11653/syfy2014040035

Analysis of 29 Microelements in *Ganoderma tsugae*

WU Fang-fang¹, WANG Jun-zhi^{1*}, WANG Shao-bai², LIAO Zhao-jiang¹, ZHANG Qiao-yin¹, LUO You-cheng¹

(1. Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, China Three Gorges University/Hubei Tujia Pharmaceutical Institute, Yichang 443002, China;

2. Hubei Three Gorges Tourism Vocational and Technical College, Yichang 443100, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the content of microelement in *Ganoderma tsugae* and provide the basis for medication safety of *G. tsugae*. **Method:** The content of 29 microelement in *G. tsugae* was determined by ICP-MS. **Result:** In *G. tsugae* pileus, the content of heavy metals Pb, Cu, As was (4.21 ± 0.29) , (12.55 ± 1.12) , and $(1.26 \pm 0.08) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ respectively, Cd was not detected. In *G. tsugaestipe*, the content of heavy metals Pb, Cu, As was (3.63 ± 0.04) , (16.59 ± 1.24) , and $(1.58 \pm 0.05) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ respectively, Cd was not detected. The content of Al, Fe, Zn, Mn in *G. tsugae* pileus was higher than in stipe. **Conclusion:** The content of heavy metals Pb, Cu, As, Cd in *G. tsugaewas* Pb $< 5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cd $< 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, Cu $< 20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, As $< 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, which was accorded with the limits of medicinal plants and preparations for the import and export of green industry standards of China.

[Key words] *Ganoderma tsugae*; *Ganoderma lucidum*; microelement; content

[收稿日期] 20130516(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31370373)

[第一作者] 吴方方,在读硕士研究生,从事活性评价研究工作, Tel:15871597259, E-mail:770302825@qq.com

[通讯作者] *汪鋆植,博士,教授,从事三峡地区民族民间药物活性评价和质量控制研究, Tel:0717-6397478, E-mail:horsedog@163.com

松杉灵芝为担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌,主要生长于我国温寒带海拔 700 ~ 1 400 m 的落叶松、红杉、冷杉、云杉的伐根和腐木上,分布于黑龙江、吉林等省,是灵芝中的极品,具有扶正固本、滋补强壮等功效及保肝、抗肿瘤、增强免疫等多种药理作用^[1-2]。近年,我们在神农架发现松杉灵芝,并成功进行了人工培养^[3-4]。为保证松杉灵芝质量,确保

用药安全,我们采用电感耦合等离子体质谱仪对松杉灵芝主要重金属元素进行了测定^[5],同时测定了松杉灵芝中多种微量元素,并与同一地区产的赤芝进行了比较,为松杉灵芝的安全栽培及合理应用提供依据。

1 材料

X Series 2 电感耦合等离子体质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司)。

松杉灵芝由三峡旅游职业技术学院王绍柏教授培养,经其鉴定为 *Ganoderma tsugae* Murr;普通灵芝于 2012 年 12 月购于神农架木鱼镇,经王绍柏教授鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leys. ex Fr.) Karst.;标本保存于天然产物研究与利用湖北省重点实验室(三峡大学)。

2 方法与结果

2.1 样品前处理 将阴干的待测样品 50 ℃ 干燥 24 h,用玛瑙研钵研碎过 80 目筛,准确称取干燥的松杉灵芝菌盖粉末、菌柄粉末及赤芝菌盖粉末约 0.05 g(精确至 0.1 mg),于聚四氟乙烯消解罐中,准确加入 2 mL 浓 HNO₃ 和 2 mL H₂O₂,设置空白对照,敞开静置 4 h 后,密封消解罐,于 180 ℃ 烘箱中加热过夜,冷却后,打开消解罐,将溶液转移至 100 mL 量瓶中,以 1% 稀硝酸定容至刻度,混匀,待测。样品进行加样回收试验时先向罐中加入适量各元素单标溶液,后进行消解过程,随同做试剂空白。

2.2 内标溶液的制备 吸取铼和铯标准溶液,浓度为 1 g·L⁻¹(国家有色金属及电子材料分析测试中心),用 1% 硝酸溶液配制成含铼和铯分别为 5 μg·L⁻¹ 的混合内标溶液。

2.3 系列标准溶液的制备 吸取 10 mg·L⁻¹ 的混合标准液(ICP multi-element standard solution VI, Germany Darmstadt, Merck KGaA 64271),用 1% 硝酸溶液配制成 Ti, V, Cr, Mn, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Li, Al, Co, Ni, Rb, Sr, Sb, Ba, La, Ce, Tl, Pb, Bi, U 浓度为 0, 0.3, 0.5, 1, 5, 10, 20 μg·L⁻¹ 的系列标准溶液, Be, B, Fe, Zn, As, Se 质量浓度为 0, 3, 5, 10, 50, 100, 200 μg·L⁻¹ 的系列标准溶液。所用试剂均为优级纯,所用水均为二次去离子水。

2.4 质谱工作参数选择 电感耦合等离子体质谱主要工作参数见表 1。

2.5 测定同位素的选择 根据被测同位素丰度高和无干扰原则来进行选择测定同位素。在 ICP-MS 技术的实际应用中,同质异位素重叠和多原子离

表 1 电感耦合等离子体质谱主要工作参数

工作参数	设定值 (CCT 模式)	设定值 (普通模式)
正向功率	1 400 W	1 350 W
冷却气(Ar)流速	13 L·min ⁻¹	13 L·min ⁻¹
助燃气(Ar)流速	0.80 L·min ⁻¹	0.80 L·min ⁻¹
雾化气(Ar)流速	0.88 L·min ⁻¹	0.93 L·min ⁻¹
Φ 采样锥(Ni)	1.1 mm	1.1 mm
Φ 截取锥(Ni)	0.75 mm	0.75 mm
采样深度	75 mm	68 mm
数据采集方式	跳峰	跳峰
测量通道数	3	3
水平坐标/垂直坐标	75/521	76/490
扫描次数	100	100
驻留时间	10 ms	10 ms
进样泵速	60 r·min ⁻¹	60 r·min ⁻¹
样品间隔冲洗时间	30 s	30 s
CCT 混合气体	H ₂ /He(8+92)	-
混合气体流速	3.5 L·min ⁻¹	-

子干扰是常见的干扰问题,影响到测试结果的准确性,其中以多原子离子的干扰最严重。在本试验中有 11 种元素 Li, Be, B, Al, Co, Ni, Rb, Sr, Ba, Bi, U 等采用碰撞/反应池技术 T(CCT),加 He 碰撞消除,以有效地减少多原子离子对待测元素的潜在干扰。各元素的测定同位素的选择为⁴⁷Ti, ⁵¹V, ⁵²Cr, ⁵⁵Mn, ⁵⁶Fe, ⁶⁵Cu, ⁶⁶Zn, ⁷⁵As, ⁸²Se, ⁹⁵Mo, ¹⁰⁷Ag, ¹¹¹Cd, ¹¹⁸Sn, ⁷Li, ²⁹Be, ¹¹B, ²⁷Al, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁸⁵Rb, ⁸⁸Sr, ¹²¹Sb, ¹³⁷Ba, ¹³⁹La, ¹⁴⁰Ce, ⁰⁵Tl, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁹Bi, ²³⁸U。

2.6 内标元素的选择 ICP-MS 在测定过程中通常存在的基体效应和仪器信号的波动,一般采用内标法可以校正这些影响。本文选择 Re, Rh 元素作为内标元素,按 2.2 方法配制成混合内标溶液,在线加入,从而消除测定元素的基体效应。Re, Rh 两种内标元素回收率均在 95.0% ~ 105.0%,故选择的内标元素为 Re, Rh。

2.7 工作曲线绘制 在优化的实验条件下,将 Ti, V, Cr, Mn, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Li, Al, Co, Ni, Rb, Sr, Sb, Ba, La, Ce, Tl, Pb, Bi, U 质量浓度为 0, 0.3, 0.5, 1, 5, 10, 20 μg·L⁻¹ 的系列标准溶液, Be, B, Fe, Zn, As, Se 质量浓度为 0, 3, 5, 10, 50, 100, 200 μg·L⁻¹ 的系列标准溶液中的各元素分别采用

不同的模式(如加 He 模式和不加 He 模式)进行测定,仪器自动绘制出标准曲线,Pb 的线性 r 为 0.990 7,Cr 的线性 r 为 0.997 9,Ag 的线性 r 为 0.998 0,Zn 的线性 r 为 0.998 8,其余各元素的线性相关系数均在 0.999 5 ~ 1.000 0。

2.8 方法检出限测定 在选定的实验条件下,对样品消解试剂空白进行测定,统计标准偏差,以 3 倍标准偏差作为各元素检出限,以 10 倍标准偏差作为测定下限,得到各元素方法的检出限和测定下限,实验结果见表 2。

2.9 样品分析结果、精密度及加标回收实验 采用选定的方法对松杉灵芝菌盖、菌柄及市售灵芝菌盖中 29 种微量元素进行了测定,测定结果见表 3。每个样品平行测定了 6 份,统计平均值和标准偏差,同时对该样品进行了加标回收试验,加标量根据各元素的实际含量采用单标溶液进行加标,统计各元素回收率。

表 2 方法检出限和测定下限

			$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
元素	检出限	测定下限	元素	检出限	测定下限
Ti	1.201	4.012	B	2.076	6.920
V	0.033	0.111	Al	3.024	10.081
Cr	2.691	8.970	Co	0.084	0.280
Mn	0.666	2.222	Ni	1.824	6.080
Fe	9.789	32.631	Rb	0.015	0.050
Cu	0.153	0.510	Sr	0.069	0.231
Zn	1.803	6.011	Sb	0.431	1.432
As	0.429	1.430	Ba	0.141	0.470
Se	0.921	3.070	La	0.017	0.058
Mo	0.121	0.403	Ce	0.427	1.423
Ag	0.036	0.120	Tl	0.017	0.058
Cd	0.015	0.051	Pb	0.147	0.490
Sn	0.034	0.112	Bi	0.147	0.491
Li	0.021	0.070	U	0.003	0.010
Be	0.006	0.021			

表 3 松杉灵芝菌盖、菌柄及市售灵芝菌盖 29 种微量元素测定、精密度及加标回收率($\bar{x} \pm s$)

元素	加标量 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	市售灵芝菌盖		松杉灵芝菌盖		松杉灵芝菌柄	
		含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%
Ti	10	9.74 ± 0.42	106.1	8.16 ± 0.33	103.9	7.97 ± 0.14	101.5
V	0.5	未检出	94.0	未检出	98.6	0.38 ± 0.06	96.0
Cr	10	1.01 ± 0.04	91.2	0.64 ± 0.13	93.8	0.78 ± 0.23	102.4
Mn	10	3.57 ± 0.17	100.1	16.74 ± 0.67	96.1	14.67 ± 0.78	93.8
Fe	50	3.45 ± 0.14	98.8	15.50 ± 1.68	100.0	16.09 ± 0.56	110.0
Cu	5	19.53 ± 0.62	96.2	12.55 ± 1.12	100.4	16.59 ± 1.24	98.0
Zn	5	13.89 ± 0.57	98.0	20.56 ± 0.85	100.2	25.23 ± 1.67	100.2
As	1	1.66 ± 0.07	101.0	1.26 ± 3.81	99.0	1.58 ± 0.05	99.0
Se	0.1	未检出	94.3	未检出	95.8	未检出	99.9
Mo	0.1	未检出	95.7	未检出	97.6	未检出	98.2
Ag	0.1	未检出	93.7	未检出	99.0	未检出	97.3
Cd	0.1	未检出	96.2	未检出	97.4	未检出	96.3
Sn	1	3.71 ± 0.16	98.5	1.30 ± 0.06	99.3	1.77 ± 0.16	101.0
Li	1	1.56 ± 0.07	99.5	未检出	97.8	未检出	98.4
Be	0.1	未检出	97.4	未检出	99.8	未检出	97.5
B	2	7.81 ± 0.33	100.0	8.96 ± 0.89	99.5	6.16 ± 0.45	99.0
Al	50	未检出	98.9	173.30 ± 10.9	96.6	229.29 ± 10.8	99.6
Co	0.1	未检出	97.5	0.058 ± 0.002	99.0	0.121 ± 0.003	99.0
Ni	4	1.05 ± 0.03	100.7	1.23 ± 0.16	106.0	1.43 ± 0.09	99.5
Rb	4	7.86 ± 0.34	92.3	4.12 ± 1.00	100.5	5.33 ± 0.24	100.5
Sr	10	4.03 ± 0.17	101.0	7.13 ± 0.69	100.2	8.92 ± 0.54	100.1
Sb	1	2.94 ± 0.12	101.5	0.52 ± 0.03	99.0	2.05 ± 0.08	98.0
Ba	10	2.96 ± 0.45	99.8	1.31 ± 0.49	100.2	1.96 ± 0.34	100.2

续表 3

元素	加标量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	市售灵芝菌盖		松杉灵芝菌盖		松杉灵芝菌柄	
		含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率/%
La	0.1	0.71 ± 0.03	110.0	0.30 ± 0.01	95.0	未检出	100.3
Ce	1	1.59 ± 0.06	102.0	2.66 ± 0.11	95.0	0.62 ± 0.02	100.2
Tl	0.1	未检出	98.6	未检出	99.6	未检出	101.2
Pb	4	未检出	99.3	4.21 ± 0.29	100.1	3.63 ± 0.04	106.5
Bi	0.1	未检出	97.5	未检出	98.4	未检出	98.9
U	0.1	未检出	92.1	未检出	95.6	未检出	99.6

3 讨论

从实验结果可知 29 种金属元素中多数元素的检测限为 $0.003 \sim 0.921 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 精密度 RSD $0.24\% \sim 4.13\%$, 加标回收率为 $90.0\% \sim 110.0\%$, 表明本方法快速灵敏, 具有良好的准确度和精密度。能客观反映样品中微量元素含量。由于 Hg 元素易挥发, 且 ICP-MS 对重金属元素 Hg 存在严重的记忆效应, 会导致测量不准确, 故本实验中未对松杉灵芝中 Hg 的含量进行测定。受试松杉灵芝、赤芝样品中重金属元素 $\text{Pb} < 5.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $\text{Cd} < 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $\text{Cu} < 20.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $\text{As} < 2.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 符合药用植物及制剂进出口绿色行业标准的限量标准, 为松杉灵芝的安全应用提供了依据。

微量元素与机体的多种生理功能密切相关^[6], 测定结果显示, 松杉灵芝菌盖中的 Zn, Mn, Fe 明显比赤芝菌盖中的含量高。Zn 为胰岛素成分之一, 对增加人体的免疫功能必不可少, Mn 可减少血管内血栓的形成, 降低动脉硬化的危险^[7-8], Fe 具有良好的补血功能^[9-10]。这些微量元素可能与灵芝滋补强壮、扶正固本、延年益寿的功效有关, 但具有抗癌功效的元素 Se 并未检出, 与文献报道一致。

不同灵芝样品中 Zn, Cu 的含量均较高, 表明灵芝对 Zn, Cu 有富集作用。富集原因还有待于进一步研究。Al, Cu, Zn 等多种元素在松杉菌柄中的含量比菌盖中高, 表明松杉灵芝不同部位对不同元素的富集能力不同。Al 在松杉灵芝中含量高, 但在赤芝菌盖中未检出, 表明种植条件、环境对灵芝中微量

元素含量具有影响, 在栽培过程中要控制好种植条件和地理环境, 以增加有益元素含量, 减少有害元素含量, 保证灵芝质量。

[参考文献]

- [1] 刘超, 普琼惠, 王洪庆, 等. 松杉灵芝的化学成分研究(II)[J]. 中草药, 2007, 38(11):1610.
- [2] 林志彬. 灵芝的现代研究[M]. 第二版. 北京: 北京大学医学出版社, 2001:21.
- [3] 闫丽华, 陈学全, 王丽, 等. 松杉灵芝药用价值与人工栽培技术[J]. 内蒙古农业科技, 2009(6):123.
- [4] 栾泰龙. 松杉灵芝仿生栽培技术[J]. 食用菌, 2013(2):48.
- [5] 温慧敏, 霍艳霜, 张园园, 等. ICP-MS 法测定栽培中微量元素的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(12):763.
- [6] 黄作明, 黄珣. 微量元素与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(6):58.
- [7] 覃艳玲, 马勇, 王磊. 614 例少儿全血微量元素检测结果分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(23):4583.
- [8] 高丽辉, 李玲. 微量元素锌、铬、钒与糖尿病[J]. 国外医学:卫生学册, 2007, 34(2):106.
- [9] 胡雪梅, 谭光群, 李晖. 治疗心血管疾病中草药中微量元素的测定[J]. 四川大学学报:工程科学版, 2003, 35(1):109.
- [10] 王秀萍, 曹广智, 康威, 等. 补益中药的功效与微量元素含量关系的研究[J]. 微量元素与健康研究, 2001, 18(4):40.

[责任编辑 顾雪竹]