

## 发酵虫草菌粉中微量元素含量的测定

钟承赞<sup>1</sup>, 管咏梅<sup>2</sup>, 李钰<sup>2</sup>, 陈丽华<sup>2\*</sup>, 杨明<sup>3</sup>, 吴德智<sup>2</sup>, 张明明<sup>2</sup>

(1. 江西国药有限责任公司, 南昌 330052;

2. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;

3. 江西济民可信金水宝制药有限公司, 南昌 330096)

**[摘要]** 目的:对发酵虫草菌粉中微量元素的含量进行分析评价,为制定发酵虫草菌粉中微量元素质量标准提供参考依据。方法:采用原子吸收火焰法对发酵虫草菌粉中锌、铁、锰、铜、铅微量元素的含量进行分析。结果:发酵虫草菌粉中微量元素的含量顺序依次为 Fe > Mn > Zn > Cu > Pb。各元素方法线性关系良好,相关系数均 > 0.999 4;重复性试验 RSD 为 0.54% ~ 0.86%;回收率为 96.05% ~ 101.71%,RSD 为 0.32% ~ 1.91%。结论:该方法简单,精密度高,灵敏度高,结果可靠。发酵虫草菌粉中微量元素含量均符合世界卫生组织对重金属限量的要求。

**[关键词]** 发酵虫草菌粉;微量元素;火焰原子吸收光谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0067-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013190067

## Content Determination of Trace Elements in *Cordyceps sinensis* Fermented Mycelium

ZHONG Cheng-zan<sup>1</sup>, GUAN Yong-mei<sup>2</sup>, LI Yu<sup>2</sup>, CHEN Li-hua<sup>2\*</sup>,  
YANG Ming<sup>3</sup>, WU De-zhi<sup>2</sup>, ZHANG Ming-ming<sup>2</sup>

**[收稿日期]** 20121022(008)

**[基金项目]** “十二五”重大新药创制专项大品种改造项目(2011ZX09201-201-30)

**[第一作者]** 钟承赞,高级工程师,从事中药开发研究,Tel:0791-87118614, E-mail:zhongcz2013@163.com

**[通讯作者]** \*陈丽华,教授,硕士生导师,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:0791-87119011, E-mail:chilly98@163.com

参考相关文献<sup>[2-3,6]</sup>采用甲醇-0.1%磷酸水溶液,乙腈-0.2%磷酸水溶液等不同比例的流动相,未达到理想的分离效果;笔者通过试验摸索,流动相为乙腈-水(15:85)时对照品和供试品中的唾液酸色谱峰均能达到很好的分离,其他杂质峰无干扰。

### [参考文献]

- [1] 林洁茹,周华,赖小平. 燕窝研究概述[J]. 中药材, 2006,29(1):85.
- [2] 冯婷玉,薛长湖,孙通,等. 燕窝中唾液酸的 DAD/FLD 串联 HPLC 测定方法研究[J]. 食品科学, 2010, 31(8):233.
- [3] 华永有,杨艳,林美华. 高效液相色谱法测定燕窝类保健品中唾液酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(10):2454.
- [4] 朱春红,雍炜,徐厉,等. 燕窝真假鉴定技术研究[J].

中国食品卫生杂志, 2007, 19(3):206.

- [5] 何艳青,张俊红. 燕窝多种鉴别及质量检测技术的分析与总结[J]. 中国实用医药, 2011, 19(6):241.
- [6] 姜水红,查圣华,谢丽芬,等. 燕窝中唾液酸含量测定方法的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(5):315.
- [7] 查圣华,姜水红,王泽凤,等. 燕窝中白燕和血燕对比研究[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(2):23.
- [8] 曹妍,徐杰,高焱,等. 白燕与血燕的营养成分分析和比较[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10):414.
- [9] 杨国武,张世伟,黄秀丽,等. 唾液酸检测研究现状及其用于燕窝产品质控评析[J]. 检验检疫学刊, 2010, 20(2):70.
- [10] 林洁茹. 燕窝 DNA 基原鉴定及抗病毒作用研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2010.

[责任编辑 顾雪竹]

(1. Jiangxi Chinese Medicine Co. , Ltd. , Nanchang 330052, China; 2. Key Laboratory for Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 3. Jiangxi Jimingkexin Jinshuibao Co. , Ltd, Nanchang 330096, China)

**[ Abstract ] Objective:** To determine the concentration of trace elements, so as to provide information for the qualitative control of *Cordyceps sinensis* fermented mycelium, which is more strictly than the standard of Chinese Pharmacopoeia. **Method:** Flame atomic absorption technique was applied to analyze the content of zinc, iron, manganese, copper and plumbum from fermented mycelium of *Cordyceps sinensis* respectively. **Result:** The content of trace elements was listed here in order of relative quantity, Fe > Mn > Zn > Cu > Pb. All calibration curves showed good linearity ( $r > 0.9994$ ). The RSD of reproducibility was between 0.54% and 0.86%. The average recoveries were between 96.05% -101.71%. The RSD of recovery was between 0.32% and 1.91%. **Conclusion:** The method is simple with good precision and sensitivity and the result was reliable. The content of trace elements in fermented mycelium of *C. sinensis* is according to the requirement given by the WHO.

**[ Key words ]** *Cordyceps sinensis* fermented mycelium; trace elements; flame atomic absorption spectrometry

中药材及其制剂中的微量元素能够改善人体的新陈代谢,并通过络合、螯合间接起到解毒作用,从而达到治病的目的。而重金属则抑制人体正常生理作用的发挥,扰乱正常的新陈代谢,同时人体内重金属含量过量会导致各种疾病的发生。因此,规定中药材及其制剂中微量元素的含量以及重金属的限度标准,对中药走向国际市场具有重要意义<sup>[1-3]</sup>。

冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* 是我国珍稀、名贵的药材,对呼吸系统、心血管、肝脏、肾脏及肿瘤等方面具有多种药理作用<sup>[4-5]</sup>。发酵虫草菌粉是从青海新鲜冬虫夏草中分离得到的菌种经纯化、人工发酵培养所得,其药理作用和化学成分与天然品相近。发酵虫草菌粉中含有多种核苷类、氨基酸类、多糖类成分,此外还有锌、钾、锰、磷、硒等微量元素以及维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、维生素 E 等多种成分<sup>[6]</sup>。本文主要对发酵虫草菌粉中锌、铁、锰等微量元素及铅等重金属的含量进行测定,为制定发酵虫草菌粉中微量元素的标准提供依据。

### 1 材料

**1.1 仪器** BS124S 型电子天平(Sartorius 公司),马弗炉(黄石市恒丰医疗器械有限公司),日立 Z-5000 型原子吸收光谱仪(日立公司),Fe, Mn, Zn, Cu, Pb 元素空心阴极灯(北京曙光电子光源仪器有限公司),万用电子炉(北京市永光明医疗器械厂)。

**1.2 试剂及试药** Fe, Mn, Zn, Cu, Pb 元素标准溶液,含量为 1 000 mg·L<sup>-1</sup>(国家标准物质研究中心),浓硝酸,双蒸水(自制)。发酵虫草菌粉(江西济民可信金水宝制药有限公司提供,批号

11010029,11010033,11010060)。

### 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 分别取各批次发酵虫草菌粉(45℃真空干燥)0.3 g,精密称定,各平行 3 份,置干净瓷坩埚中,于电炉上先低温炭化至无烟,冷却,移入马弗炉中,于 500℃灰化 7 h(温度到达 500℃开始计时),取出冷却,加浓硝酸溶液 1 mL 使溶解,放入电炉中低温挥酸,边挥酸边加入双蒸水,直到溶液澄清。转入 50 mL 的量瓶中,用水洗涤容器,洗液合并于量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。同法制备试剂空白溶液。

**2.2 仪器工作条件** 采用空气-乙炔原子吸收光度法,Fe, Mn, Zn, Cu, Pb 各元素测定参数见表 1。

表 1 各元素测定参数

元素	波长 λ/nm	灯电流 I/mA	电压 /V	狭缝 /nm	乙炔流量 /L·min <sup>-1</sup>	空气流量 /L·min <sup>-1</sup>
Fe	248.3	15.0	360	0.2	1.7	6.0
Mn	279.5	9.0	360	0.4	1.0	6.0
Cu	324.8	9.0	360	1.3	2.0	6.0
Zn	213.9	6.5	360	1.3	1.5	6.0
Pb	283.3	9.0	360	1.3	1.0	6.0

**2.3 标准曲线的绘制** 分别精密量取 Cu 元素标准溶液 0.00, 0.10, 0.20, 0.80, 1.60, 3.20 mL 于 100 mL 量瓶中,加双蒸水至刻度,摇匀;精密量取 Fe 元素标准溶液 0.00, 0.025, 0.05, 0.10, 0.40, 0.80 mL 于 100 mL 量瓶中,加双蒸水至刻度,摇匀;精密量取 Zn 元素标准溶液 0.00, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.20, 0.40 mL 于 100 mL 量瓶中,加双蒸水至刻度,摇匀;

精密量取 Mn 元素标准溶液 0.00, 0.025, 0.050, 0.20, 0.40, 0.80 mL 于 100 mL 量瓶中,加双蒸水至刻度,摇匀;精密量取 Pb 元素标准溶液 0.00, 0.012 5, 0.050, 0.10, 0.20, 0.40 mL 于 100 mL 量瓶中,加双

蒸水至刻度,摇匀。按仪器最佳工作条件分别测定各标准系列工作液。由计算机绘出标准曲线,算出回归方程和相关系数。由表 2 可知,在该工作范围内,各元素线形关系良好。

表 2 各元素回归方程及相关系数(r)

元素	标曲浓度 C/mg·L <sup>-1</sup>						线性方程	r
	1	2	3	4	5	6		
Fe	0.00	0.025	0.5	1	4	8	Y = 0.035 9X + 0.002 7	0.999 7
Mn	0.00	0.25	0.5	2	4	8	Y = 0.086 4X + 0.001 1	0.999 5
Cu	0.00	1	2	8	16	32	Y = 0.027 3X - 0.010 8	0.999 9
Zn	0.00	0.125	0.25	0.5	2	4	Y = 0.131 6X + 0.006 2	0.999 4
Pb	0.00	0.125	0.5	1	2	4	Y = 0.010 9X + 0.000 6	0.999 7

2.4 精密度试验 取批号 11010029 的发酵虫草菌粉按 2.1 项下制备样品在不同时间重复测定 5 次,平均 RSD < 1.80%,证明本法精密度好,结果见表 3。

表 3 各元素精密度测定

元素	含量/mg·L <sup>-1</sup>					平均 /mg·L <sup>-1</sup>	RSD /%
	1	2	3	4	5		
Fe	0.762	0.768	0.762	0.756	0.768	0.763 2	0.66
Mn	0.356	0.358	0.356	0.356	0.350	0.355 2	0.85
Cu	0.734	0.742	0.734	0.734	0.728	0.734 4	0.68
Zn	0.444	0.444	0.438	0.444	0.434	0.440 8	1.04
Pb	0.276	0.276	0.272	0.272	0.264	0.272 0	1.80

2.5 重复性试验 取 11010029 批次 5 个样品,按 2.1 项下方法配成供试样品溶液,按 2.2 项下工作条件测定,平均 RSD < 0.96%,表明该方法重复性较好,结果见表 4。

表 4 各元素重复性测定 mg·L<sup>-1</sup>

No.	元素				
	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb
1	0.764	0.352	0.732	0.442	0.274
2	0.762	0.356	0.738	0.44	0.272
3	0.768	0.353	0.742	0.434	0.27
4	0.765	0.351	0.734	0.438	0.274
5	0.751	0.356	0.74	0.441	0.268
6	0.761	0.352	0.741	0.436	0.271
平均	0.762	0.353	0.738	0.439	0.272
RSD/%	0.77	0.61	0.54	0.7	0.86

2.6 回收率试验 分别称取已知含量的 11010029 批次样品 0.15 g,精密称定,置于锥形瓶中,分别准确加入适量 Fe, Mn, Cu, Zn, Pb 标准溶液,按 2.1 项下方法配成供试样品溶液,按 2.2 项下工作条件测定,计算其回收率,结果各元素回收率在 96.05% ~

101.71%,表明该方法回收率良好,结果见表 5。

表 5 各元素回收率测定

元素	含量 /μg	加标 /μg	实测值 /μg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
Fe	21.12	20	41.05	99.64	100.25	0.56
	21.07	20	41.00	99.66		
	21.00	20	41.20	101.00		
	20.83	20	40.98	100.76		
	21.00	20	41.02	100.10		
Mn	20.85	20	40.92	100.35	101.71	0.32
	8.64	9	17.77	101.41		
	8.90	9	18.10	102.26		
	8.93	9	18.07	101.59		
	9.05	9	18.20	101.69		
Cu	8.82	9	17.95	101.43	96.05	1.32
	8.66	9	17.83	101.89		
	1.46	1	2.42	96.50		
	1.48	1	2.42	93.80		
	1.46	1	2.42	96.20		
Zn	1.46	1	2.42	95.90	101.25	1.67
	1.44	1	2.42	97.70		
	1.46	1	2.42	96.20		
	4.89	5	10.08	103.83		
	5.09	5	10.08	99.84		
Pb	5.11	5	10.08	99.45	99.25	1.91
	5.05	5	10.08	100.65		
	4.95	5	10.08	102.66		
	5.03	5	10.08	101.07		
	0.22	0.2	0.41	97.00		
Pb	0.22	0.2	0.41	97.00	99.25	1.91
	0.21	0.2	0.41	99.25		
	0.21	0.2	0.41	100.00		
	0.21	0.2	0.41	100.75		
	0.21	0.2	0.41	101.50		

2.7 样品的测定 按表 1 所列仪器工作条件,用原子吸收分光光度计火焰法测定样品溶液中 Fe, Cu,

Zn, Mn, Pb 的量。在测定 Fe 时需将样品稀释后再进行测定。结果见表 6。

表 6 各元素含量测定( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

元素	不同批次样品浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$				RSD/%	平均含量 $/\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
	11010029	11010033	11010060	空白		
Fe	0.762 ± 0.032	0.768 ± 0.024	0.762 ± 0.013	-0.076	0.45	140.00
Mn	0.356 ± 0.103	0.356 ± 0.074	0.358 ± 0.125	-0.004	0.32	60.11
Cu	0.734 ± 0.078	0.742 ± 0.137	0.734 ± 0.035	0.678 3	0.63	9.73
Zn	0.444 ± 0.162	0.444 ± 0.046	0.438 ± 0.084	0.241 3	0.78	33.45
Pb	0.276 ± 0.072	0.276 ± 0.182	0.272 ± 0.903	0.266 2	0.84	1.41

2001 年 7 月 1 日国家对外贸易经济合作部出台和实施的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》限量指标为:重金属总量应  $\leq 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 铅(Pb)  $\leq 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 镉(Cd)  $\leq 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 铜(Cu)  $\leq 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 砷(As)  $\leq 2.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ; 各国对进出口中药材重金属含量进行了严格限制。由表 3 中可知,金水宝原料药及其制剂中含有多种人体所需微量元素,其中含有 Fe  $140 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Mn  $60.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Cu  $9.73 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Zn  $33.45 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , Pb  $1.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 重金属元素含量均小于国家规定限量,而对人体有益的微量元素含量较高。

### 3 讨论

仅采用硝酸进行消解就能达到很好的效果<sup>[7]</sup>, 本试验样品处理中,采用硝酸作为氧化剂对样品进行消解,结果表明硝酸具有消解时间短、效果好,消解完全,元素损失少的优点;相对于湿法处理样品,干灰化法溶样迅速、耗酸量少,适合处理大量样品,但高温灼烧过程可能会导致样品中某些元素同位素的分馏<sup>[8-9]</sup>。现已有微波消解技术对样品进行湿法处理,但是由于微波消解会导致某些有利于人体健康的微量元素含量减少<sup>[10-11]</sup>,故本试验采用马弗炉对样品进行干法处理,以减小样品处理过程中,微量元素的损失。

除 Fe 等微量元素及铅等重金属外,本试验分别采用古蔡氏法、原子荧光光谱法、原子吸收分光光度法石墨炉法对发酵虫草菌粉中重金属砷、汞及微量元素钠、钾的含量进行了测定,结果表明其含量均符合规定。

### [参考文献]

[1] 陆龙根. 植物类中药材中砷镉和铅的含量及安全性评[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(1): 51.

[2] 陈磊, 刘怡. 不同产地栀子重金属含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 68.

[3] 罗晓健, 孙婷婷, 高丽丽, 等. 中药重金属研究概况[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(6): 88.

[4] 王钢力, 金红宇, 韩小萍, 等. 冬虫夏草药材的质量研究及存在问题[J]. 中草药, 2008, 39(1): 115.

[5] 周惠燕, 陈珏, 许丽丽. 冬虫夏草中核苷类化学成分的含量测定研究进展[J]. 中成药, 2011, 33(11): 1955.

[6] 钟丽萍. 金水宝的临床应用及作用机理探讨[J]. 实用临床医学, 2001, 2(4): 99.

[7] 卑占宇, 罗晓冰, 李银保, 等. 微波消解-火焰原子吸收光谱法测定冬虫夏草中的微量元素[J]. 光谱实验室, 2009, 26(2): 391.

[8] 李世珍, 朱祥坤. 干法灰化和湿法消解植物样品的铜锌铁同位素测定对比研究[J]. 矿物学报, 2011, S1: 1009.

[9] 龙尚祥, 赵杨, 周欣, 等. 杠板归药材中重金属的含量测定及其质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 18(2): 52.

[10] 彭日煌. 虫草菌粉活性物质与营养成分研究[D]. 南昌: 南昌大学生命科学学院, 2005.

[11] 何佩雯, 杜钢, 赵海誉, 等. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定 9 种中药材中微量元素含量[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2): 271.

[责任编辑 顾雪竹]