ICP-MS 分析丽水地产灵芝中的重金属元素

范蕾，刘敏，余乐，陈张金(丽水市食品药品与质量技术检验检测院，浙江 丽水 323000)

摘要：目的 采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)建立灵芝中砷(As)、汞(Hg)、铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu) 5 种重金属元素的测定方法。**方法** 采用微波消解仪进行消解，以 ^{115}In、^{72}Ge、^{209}Bi 为内标，采用 ICP-MS 法测定丽水产地灵芝的菌盖与菌柄中 As、Hg、Pb、Cd、Cu 的含量。**结果** 检测的 5 种元素线性关系良好，相关系数 r≥0.999 1。22 批样品中 Cd 超出限度的有 5 批， As、Pb 超出限度的各有 1 批，Cu 超出限度的有 2 批。Cu、Cd、Hg 在菌盖中的富集较多，As、Pb 则在菌柄中富集较明显。**结论** 该方法灵敏、高效、准确，且分别测定了灵芝不同药用部位的重金属含量，对龙泉灵芝栽培基地选择，人工种植过程中重金属含量控制等具有现实意义，可用于灵芝的安全性评价。

关键词：灵芝；金属元素；电感耦合等离子体质谱法

中图分类号：R284.1 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2019)07-0837-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.07.014

引用本文：范蕾, 刘敏, 余乐, 等. ICP-MS 分析丽水地产灵芝中的重金属元素[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(7): 837-840.

Determination of Heavy Metals in Ganoderma from Lishui by ICP-MS

FAN Lei, LIU Min, YU Le, CHEN Zhangjin(*Lishui Institute of Food and Drug & Quality and Technical Inspection, Lishui 323000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To detect 5 heavy metal elements including As, Hg, Pb, Cd and Cu in Ganoderma by inductively coupled plasma mass spectrometry(ICP-MS). **METHODS** The content of As, Hg, Pb, Cd and Cu in Ganoderma from Lishui were determined by ICP-MS using ^{115}In, ^{72}Ge and ^{209}Bi as internal standard by microwave digestion. **RESULTS** The linearity of the 5 elements were good, and the correlation were ≥0.999 1. There were 5 batches of Cd exceeding the limit in the 22 batches of samples, one batch of As and Pb exceeding the limit, and 2 batches of Cu exceeding the limit. Cu, Cd and Hg accumulated more in the cap, while As and Pb accumulated more in the stalk. **CONCLUSION** The method is sensitive, efficient and accurate, and the content of heavy metals in different medicinal parts of Ganoderma are determined respectively. It has practical significance to select Ganoderma cultivation base in Longquan, and control the heavy metal content during antificial planting, etc. It can be used for the safety evaluation of Ganoderma.

KEYWORDS: Ganoderma; metal elements; inductively coupled plasma mass spectrometry(ICP-MS)

灵芝，又称为灵芝草、瑞草等，为多孔菌科真菌赤芝[*Ganoderma lucidum*(Leyss.ex Fr.)Karst.]或紫芝(*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang)的干燥子实体，具有补气安神、止咳平喘的功效，常用于心神不宁、失眠心悸、肺虚咳喘、虚劳短气、不思饮食等[1]。灵芝作药用在我国已有 2 000 多年的历史，被历代医药家视为滋补强壮、扶正固本的神奇珍品。随着现代科学的发展，灵芝越来越多地应用于药品和保健食品中。现代科学研究表明，灵芝中含多种对人体有益的化学成分，如三萜化合物、多糖、氨基酸、核苷等，具有广泛的药理作用，如增强免疫力，延缓衰老，抗肿瘤、抗病毒，保肝护胆，降低胆固醇、降血脂、降血糖等[2-3]。丽水龙泉是中华灵芝第一乡，2010 年龙泉灵芝获得中国国家地理标志产品保护，种植农户及生产、加工企业较多。近年来，由于生长环境等因素造成的中药材中重金属、农药残留等不同程度超标等成为中药材出口走向世界的“贸易壁垒”，重金属是否超标对中药材的利用价值产生直接影响[4-7]。目前测定金属元素使用较多的方法包括原子吸收光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)。但在微量及痕量元素的检测中，ICP-OES 与 ICP-MS 因具有更低的检测限而更加适用。其中 ICP-MS 是近年来发展应用较快的元素分析技术之一，不但可完成多元素的同时测定，而且具备检出限低、灵敏度高、线性范围宽、分析速度快等优点，因此在中药微量及重元素分析中已被广泛应用[8-9]。本研究采用 ICP-MS 首次对具有产业优势的丽水龙泉地产灵芝中所含砷(As)、

基金项目：丽水市科技计划项目(2016GYX43)

作者简介：范蕾，女，副主任中药师 Tel: (0578)2183986 E-mail: 20662835@qq.com

汞(Hg)、铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu) 5 种重金属元素同时进行测定，且在取样时将菌盖、菌柄 2 个不同药用部位分别进行测定，为全面精准评价灵芝质量提供理论依据。

1 实验材料

1.1 仪器

Agilent 7900 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 科技有限公司)；Mlli-Q Advan-tage A10 超纯水系统(美国 MERCK MLLIPORE)；CEM MARSXPERSS 微波消解仪(美国 CEM 公司)；XS104 型十万分之一电子天平(美国梅特勒-托利多公司)。

1.2 试药

Cu、As、Pb、Cd、Hg 标准液(中国计量科学研究院，批号分别为 16103，16052，16064，16074，16084；规格：1 000 μg·mL^{-1})；铋、锗、铟、金单元素标准物质溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心，样品唯一性编号分别为 171007-2，171015，171005，16A007-2；规格：1 000 μg·mL^{-1})；浓硝酸(优级纯，默克)；超纯水由二次去离子水经 Mlli-Q 超纯水系统处理而得(电阻率≥18.2 MΩ)。灵芝经丽水市食品药品与质量技术检验检测院专家鉴定为多孔菌科真菌赤芝[*Ganoderma lucidum* (Leyss.ex Fr.)Karst.]或紫芝(*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang)的干燥子实体。将灵芝药材分为菌盖、菌柄 2 部分进行试验，样品信息见表 1。

2 方法

2.1 仪器参数

射频功率：1 500 W；等离子体气流速：15.00 L·min^{-1}；辅助气流速：0.90 L·min^{-1}；载气流速：1.09 L·min^{-1}；采样锥孔径：1.0 mm；截取锥孔径：0.8 mm；雾化温度：室温；真空压力：1.21×10^{-6} Pa；采样深度：8 mm；采样时间：10 s；分析模式为定量。

2.2 溶液的制备

2.2.1 Pb、As、Cd、Cu 标准溶液的制备 精密吸取 Pb、As、Cd、Cu 标准溶液适量，用 2%硝酸稀释成含 Pb 1 μg·mL^{-1}、As 1 μg·mL^{-1}、Cd 0.5 μg·mL^{-1}、Cu 10 μg·mL^{-1} 的标准溶液。分别精密吸取上述配制的 Pb、As、Cd、Cu 标准溶液适量分别置于同一量瓶中，用 2%硝酸稀释至刻度，制成含 Pb、As 质量浓度均为 1，5，10，20 μg·L^{-1}，含 Cd 质量浓度为 0.5，2.5，5，10 μg·L^{-1}，含 Cu 质量浓度为 50，100，200，500 μg·L^{-1} 的混合标准溶液。

表 1 灵芝样品信息

Tab. 1 Information of Ganoderma samples

No.	产 地	种 号	采收时间
1*	龙泉兰巨	102 1 年生	2014.09
2*	龙泉兰巨	203 1 年生	2014.09
3*	龙泉兰巨	119 1 年生	2014.09
4*	龙泉兰巨	102 1 年生	2014.09
5*	龙泉兰巨	203 1 年生	2014.09
6*	龙泉兰巨	102 2 年生	2014.09
7*	龙泉兰巨	203 2 年生	2014.09
8*	龙泉查田	208 2 年生	2015.09
9	龙泉查田	208 1 年生	2015.09
10	龙泉查田	208 1 年生	2015.09
11*	龙泉查田	119 1 年生	2015.09
12	龙泉查田	208 2 年生	2015.09
13*	龙泉灵芝研究所	–	2016.09
14*★	龙泉灵芝研究所	–	2016.09
15	龙泉灵芝研究所	–	2016.09
16	龙泉八都小窑	203 1 年生	2016.09
17	龙泉八都小窑	207 1 年生	2016.09
18	龙泉八都小窑	119 1 年生	2016.09
19*★	丽水农贸城	–	2016.10
20*★	安徽亳州	–	2017.04
21*★	安徽亳州	–	2017.04
22*★	海南	–	2016.09

注：*代表菌盖、菌柄分别取样；未加*代表仅为菌盖取样；★代表紫芝；未加★代表赤芝。

Note: *Representing the caps and stipe; without * representing only the cap sampling; ★ representing the *Ganoderma sinense*; without ★ representing the *Ganoderma lucidum*.

2.2.2 Hg 标准溶液的制备 精密吸取 Hg 标准溶液适量制成含 Hg 为 0.1 μg·mL^{-1} 的标准溶液，精密吸取上述标准溶液适量，用 2%硝酸制成含 Hg 分别为 0.2，0.5，1，2，5 μg·L^{-1} 的标准溶液。

2.2.3 内标液的制备 精密吸取锗、铋、铟标准溶液 0.1 mL 置 100 mL 量瓶中用 2%硝酸稀释成含 3 种元素分别为 1 μg·mL^{-1} 的混合溶液作为内标溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 取灵芝样品，于 60 ℃干燥 2 h，粉碎成粗粉，精密称取样品约 0.2 g，置聚四氟乙烯消解罐内，加硝酸 8.0 mL，混匀，浸泡过夜，置微波消解仪内进行消解。消解完成后，放冷，将消解液转移至 50 mL 聚四氟乙烯量瓶中，用少量超纯水洗涤消解罐 3 次，合并至量瓶中，精密加入金单元素标准溶液(1 μg·mL^{-1})200 μL，用超纯水定容至刻度线，混匀，即为待测样。消解条件见表 2。

表 2 微波消解条件表

Tab. 2 Condition table of microwave digestion

步骤	功率/W	时间/min	温度/℃	保持时间/min
1	1 600	5	30~120	3
2	1 600	3	120~150	10
3	1 600	10	150~180	25

2.2.5 阴性对照溶液的制备　精密取硝酸 8.0 mL 置聚四氟乙烯消解罐中，除不加金单元素标准溶液外，其余按“2.2.4”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察　取“2.2.1”和“2.2.2”项下配置好的各浓度标准溶液，按照“2.1”项下条件进行测定。以标准溶液浓度为(x)横坐标，测量值(y)为纵坐标，绘制标准曲线，得到各元素标准曲线方程及相关系数。结果见表 3。

2.3.2 仪器精密度试验　取“2.2.1”项下制备的混合标准溶液，“2.2.2”项下的 Hg 标准溶液及内标溶液，连续进样 6 次，各元素的 RSD 值为 0.6%~1.5%。结果见表 3。

2.3.3 重复性试验　取 7*号供试品 6 份，按照“2.2.4”项下方法制备相应供试品溶液，按照“2.1”项下条件测定各样品中各元素的含量，RSD≤1.6%，结果见表 3。

2.3.4 稳定性试验　取 7*号供试品 1 份，按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液，分别于 0，4，8，12，16，20，24 h 测定，Cu、As、Cd、Hg、Pb 的 RSD 分别为 0.3%，1.2%，0.7%，1.1%，0.9%。

2.3.5 加样回收率试验　取 7*号供试品 6 份，分别精密加入一定量的标准品溶液，按照“2.2.4”项下方法制备相应的供试品溶液，按照“2.1”项条件测定各元素，计算得各元素的加样回收率为 91.31%~103.28%，RSD 均≤1.7%。

2.4 样品的测定

按照“2.2.4”项下方法对表 1 中样品进行处理，按照“2.1”项下设定的仪器参数对各批样品的重金属含量进行检测。结果显示，22 批样品中共有 8 批存在 1 种或 2 种元素超出药典相关限度的情况，其中多存在于菌盖中。Hg 元素含量均较低或未检出，见表 4。从药用部位看，Cu、Cd、Hg 3 种元素在菌盖中的富集较菌柄中多，而 As、Pb 则在菌柄中富集较明显，见图 1。从样品产地看，22 批灵芝样品中有 18 批来自丽水龙泉地区，其中 7 批来自兰巨，5 批来自查田，3 批来自灵芝研究所，3 批来自八都，另有 4 批来自外省。从结果看，外省样品的 5 种重金属元素总含量较高于龙泉地区样品，见图 2。

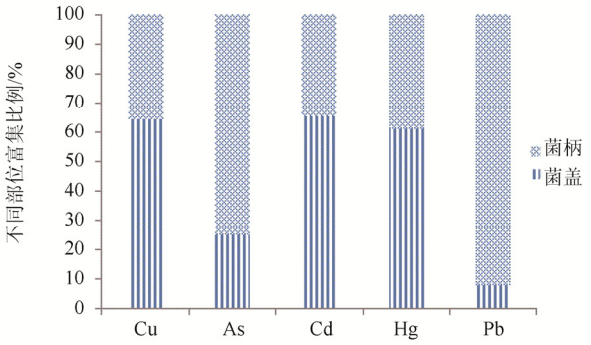

图 1 各元素在灵芝中不同部位的富集差异

Fig. 1 Differences of various elements in different parts of *Ganoderma lucidum*

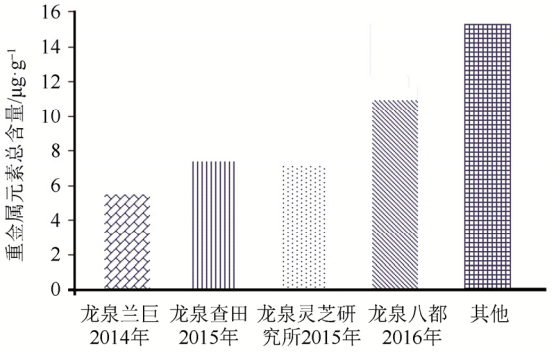

图 2 不同产地灵芝中重金属总量的比较

Fig. 2 Comparison of total heavy metals in Ganoderma from different habitats

3 讨论

本实验分别选取了硝酸-氢氟酸、硝酸-双氧水、硝酸等体系进行消解效果比较，结果硝酸单体系消解效果良好，且节能、方便、基体干扰小。同时对硝酸的用量也进行了比较，最后选择硝酸用量为 8.0 mL。

国际上对中药材、中成药的重金属含量都有具体的规定，如新加坡要求进口的中药材和中成药中 Pb≤20 mg·kg^{-1}、As≤5 mg·kg^{-1}、Hg≤0.5 mg·kg^{-1}、Cu≤155 mg·kg^{-1}(Cd 无规定)[10]，22 批样品均在限度范围内。参照中国药典 2015 年版及 2015 年国

表 3 各元素线性关系、检出限、精密度及重复性试验

Tab. 3 Linear relationship, detection limit, precision and repeatability test results of each element

元素	回归方程	r	检出限/μg·L^{-1}	精密度 RSD/%	重复性	
					测定/μg·g^{-1}	RSD/%
Cu	y=0.095 72x+0.025 06	0.999 1	0.012 90	0.6	3.608 3	0.8
As	y=0.006 523x+8.03×10^{-4}	0.999 9	0.043 44	1.5	0.085 1	1.3
Cd	y=0.002 234x+5.055×10^{-5}	0.999 5	0.003 02	1.1	0.159 4	1.0
Hg	y=0.001 314x+4.499×10^{-7}	0.999 2	0.001 48	1.3	0.025 3	1.5
Pb	y=0.013 5x+0.013 75	0.999 1	0.070 19	1.0	0.041 3	1.6

表 4 灵芝样品中 5 种重金属元素的测定结果(n=2)

Tab. 4 Five heavy metal content in Ganoderma samples (n=2) μg·g^{-1}

No.	Pb	Cd	As	Cu	Hg
1	0.805 9	0.120 9	0.256 2	3.067 2	–
1*	–	0.097 6	0.268 5	2.446 8	–
2	–	0.286 4	0.091 3	5.919 1	0.008 3
2*	–	0.141 1	0.080 1	3.606 0	–
3	–	0.132 9	0.169 4	8.148 9	0.018 7
3*	–	0.147 2	0.127 0	2.415 5	–
4	–	0.266 5	0.124 7	6.420 3	0.009 1
4*	–	0.125 7	0.110 7	3.499 5	0.001 7
5	–	0.349 1[1)]	0.088 7	5.609 6	–
5*	1.278 4	0.207 4	0.334 2	6.734 0	–
6	–	0.168 5	0.022 8	6.604 0	0.026 3
6*	0.528 3	0.097 0	0.137 7	2.996 4	–
7	–	0.625 0[1)]	0.316 9	9.253 3	0.027 9
7*	0.041 3	0.159 4	0.085 1	3.608 3	0.025 3
8	–	0.178 2	0.035 1	3.786 1	–
8*	3.755 5	0.163 5	3.401 0[1)]	4.422 4	–
9	0.090 3	0.146 7	0.287 4	4.287 3	–
10	–	0.140 3	0.049 7	5.689 9	–
11	–	0.074 4	0.042 8	4.581 0	0.028 7
11*	–	0.039 4	0.128 5	1.683 3	–
12	–	0.267 8	0.230 3	18.424 2	0.001 3
13	–	0.137 1	0.096 9	14.390 4	0.009 8
13*	0.341 2	0.068 8	0.249 9	5.579 4	–
14	–	0.091 2	0.026 8	7.922 6	0.004 8
14*	–	0.067 5	0.062 2	2.302 8	–
15	–	0.151 0	0.065 4	4.300 6	–
16	–	0.239 2	0.221 1	4.943 6	0.014 9
17	–	0.298 7	0.159 4	8.566 2	–
18	–	0.393 1[1)]	0.031 1	17.781 8	0.052 7
19	–	0.179 0	0.214 4	21.359 8[1)]	–
19*	–	0.112 1	0.143 5	8.457 4	–
20	–	0.177 7	0.147 5	7.267 4	0.003 3
20*	5.928 1[1)]	0.127 1	1.196 2	10.953 8	0.041 3
21	–	0.596 8[1)]	0.426 8	25.482 4[1)]	0.038 2
21*	1.400 7	0.227 9	0.782 7	12.603 6	0.036 4
22	–	0.311 6[1)]	0.365 2	16.564 2	–
22*	–	0.142 6	0.077 3	7.965 9	–

注：*代表取样部位为菌柄；无*代表取样部位为菌盖；[1)]表示超出药典相关限度要求。

Note: *Representing the stipe; without * representing the cap; [1)]representing exceeding the limit requirements of the Pharmacopoeia.

际标准化组织颁布的《中医药-中药材重金属限量》国际标准[ISO18664：2015(E)][11]中对中药的重金属及有害元素限度：Pb≤5 mg·kg^{-1}，Cd≤0.3 mg·kg^{-1}，As≤2 mg·kg^{-1}，Hg≤0.2 mg·kg^{-1}，Cu≤20 mg·kg^{-1}，样品中 Pb、As 超出限度要求的各有 1 批，Cu 有 2 批，Cd 有 5 批，其余均在限度范围内。尤其 Pb、Hg 2 种元素含量较低，其中 13 批样品 Pb 未检出，7 批未检出 Hg。显示龙泉地区灵芝的重金属含量较低，整体质量良好。

实验中 14、19~22 号样品为紫芝，除 14 号外均来自外省。由本次结果看，紫芝中 Cu 含量明显高于赤芝，但由于同类中药材微量元素含量差异，反应的是土壤、水质、气候等环境因素的地区差异，且样品数量存在一定差异，故此结果无法作为赤芝与紫芝间重金属元素含量高低的科学依据，两者在重金属元素含量上是否存在差异性还有待进一步研究探讨。

实验中同时对样品中其他宏量及微量元素采用半定量测定方法进行测量，结果发现灵芝样品中含有丰富的钠、镁、钙、钾及锌、铁、锰等元素，其中镁含量均≥1 000 μg·g^{-1}，部分样品钾含量≥10 000 μg·g^{-1}，铁含量>100 μg·g^{-1}。

减少中药材的重金属污染是从源头上保证中药材质量，保障中药用药安全的重要指标。本研究通过对不同地区灵芝样品不同药用部位中 5 种重金属元素含量进行测定分析与比较研究，可为灵芝的重金属元素标准制定提供依据，为其饮片生产和临床用药安全提供参考。同时，研究结果对龙泉灵芝栽培基地选择，人工种植过程中重金属含量控制等具有现实意义。

REFERENCES

[1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 188-189.

[2] LIU F, LI P, HUANG X W, et al. Anti-tumor effect of triterpene GLE from Ganoderma Lucudum *in vivo* and *in vitro* [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2012, 21(23): 2790-2793.

[3] DING P, QIU J Y, LIANG Y J, et al. Chromatographic fingerprints of triterpenoid constituents of *Ganoderma lucidum* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(18): 2356-2359.

[4] 王怀豫, 郭晓蕾, 朱龙平, 等. 不同产地灵芝中重金属和有机氯类农药残留含量比较[J]. 中药材, 2011, 34(11): 1672-1674.

[5] XING Z T, ZHOU C Y, ZHANG J S, et al. Assay of trace elements and heavy metals in different growth stages of *Ganoderma lucidum* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2001, 24(7): 469-470.

[6] WANG J C. Content determination of four heavy metal elements in *Ganoderma lucidum* [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2018, 46(4): 186-187.

[7] GUO H L, ZHANG S, WANG P J, et al. Comparison of different pretreatment methods for determination of metallic elements in Ganoderma extract [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2016, 51(2): 96-100.

[8] DUAN H F, RONG C L. The application of ICP-MS in determination of heavy metals and harmful elements in traditional Chinese medicine [J]. China Med Pharm(中国医药科学), 2015, 1(5): 95-96.

[9] WEN H M, CHEN X H, DONG T X, et al. Determination of heavy metals in four traditional Chinese medicines by ICP-MS [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 31(16): 1314.

[10] ZHANG M T, MA X, ZHANG P, et al. Determination of the contents of heavy metals in Jiebai capsules by microwave digestion and ICP-MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(7): 963-966.

[11] QIU X W, ZHANG C H, WU A Y. Determination and analysis of heavy metals content in Isatidis Radix of different originations [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(5): 715-718.

收稿日期：2018-05-22

(本文责编：李艳芳)