

新型固体吸附技术去除灵芝提取物中重金属的初步研究

郭红丽¹, Christopher North², 刘利亚³, 贺欢¹, 龙厚宁¹, 徐颖键², 张敏¹, 王鹏娇¹, 高秀丽^{1*}

1. 贵阳医学院药学院, 贵州 贵阳 550004

2. PhosphonicS Ltd., British Oxford OX144RU

3. 贵州省疾病预防控制中心, 贵州 贵阳 550004

摘要: **目的** 利用新型固体吸附技术建立一种新的灵芝提取物中去除重金属的处理方法。**方法** 将灵芝提取物加 0.5%乙醇水溶液进行溶解, 加入 10 mol/kg 固体吸附剂, 室温搅拌吸附 15 h, 进而采用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法和苯酚浓硫酸显色法分别测定吸附处理前后灵芝提取物中 5 种重金属元素 (Pb、Cd、Hg、As、Cu) 和有效成分灵芝多糖的量。**结果** 经吸附剂处理后的灵芝提取物中重金属量显著降低, Pb、Cd、Hg、As、Cu 平均去除率分别为 73.79%、74.28%、57.73%、76.55%、85.39%, 重金属总量去除率达 81.68%, 达到《中国药典》2010 年版标准, 灵芝多糖量变化甚小。**结论** 该新型吸附剂去除重金属效果明显且不影响有效成分的量, 可被推荐用于去除灵芝提取物中超标重金属。

关键词: 新型固体吸附技术; 灵芝提取物; 重金属; Pb; Cd; Hg; As; Cu

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)12-1764-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.12.010

Preliminary study on removal of heavy metals in *Ganoderma lucidum* extract with new solid scavenging technology

GUO Hong-li¹, Christopher North², LIU Li-ya³, HE Huan¹, LONG Hou-ning¹, XU Ying-jian², ZHANG Min¹, WANG Peng-jiao¹, GAO Xiu-li¹

1. School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China

2. PhosphonicS Ltd., British Oxford OX144RU, UK

3. Guizhou Province Center for Disease Control, Guiyang 550004, China

Abstract: Objective To establish a new method for removal of heavy metals pollution in Chinese materia medica extracts (CMME) with new kinds of solid scavenging technology. **Methods** 0.5% Ethanol aqueous solution was added into the *Ganoderma lucidum* extract to dissolve it, making the 10 mol/kg of scavenger into the sample solution, stirring for 15 h in ambient temperature, then the concentration of five kinds of heavy metals (Pb, Cd, Hg, As, and Cu) was determined by ICP-MS and the *G. lucidum* polysaccharide was detected by Phenol-sulfuric acid method in the extract with or without treatment. **Results** The concentrations of five kinds of heavy metals decreased significantly after the treatment of scavenging, average removing percentages of Pb, Cd, Hg, As, and Cu were respectively 73.79%, 74.28%, 57.73%, 76.55%, and 85.39%, removing percentage of the total heavy metals was 81.68%, which was up to the standard in *Chinese Pharmacopoeia* 2010. The content of *G. lucidum* polysaccharide kept almost the same after the treatment by the new solid technology. **Conclusion** The removal effect of heavy metals in extract by new scavenger is significant and the content of CMME is not affected. The method can be used to deal with *G. lucidum* extract if the heavy metals are exceed over the standard.

Key words: new solid scavenging technology; *Ganoderma lucidum* extract; heavy metal; Pb; Cd; Hg; As; Cu

近年来, 由于中药材受重金属污染问题, 引起了政府及医药科技人员的高度重视^[1]。因此, 开发高效去除中药提取物中重金属且不影响有效成分量

和疗效的技术已迫在眉睫。目前, 去除中药提取物中重金属的方法主要有离心法、沉淀法、超滤法等, 但去除中药提取物中重金属的同时有效成分的保留

收稿日期: 2015-01-13

基金项目: 中英联合项目——贵州省中药现代化科技产业 (黔科合中药字[2013]5010)

作者简介: 郭红丽 (1989—), 女, 山西临汾人, 硕士在读, 从事药物分析的科研工作。Tel: 15761600283 E-mail: guohl0602@163.com

*通信作者 高秀丽, 女, 教授, 硕士生导师, 从事药物分析和体内药理学研究。E-mail: 1550434689@qq.com

研究还鲜有报道^[2]。本课题与英国 PhosphonicS 公司联合开展了新型固体吸附技术用于去除灵芝提取物中重金属的初步研究,旨在保护中药有效成分的前提下,解决中药材重金属超标导致的用药安全与国际化问题。

1 仪器与材料

Xseries 2 型电感耦合等离子体质谱仪,美国热电公司; Cthosa Ethos A 高压微波消解仪,意大利 Milestone 公司; 艾科浦超纯水处理系统,重庆颐洋企业发展有限公司; 电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; 配套聚四氟乙烯瓶。

硝酸(优级纯); 过氧化氢(优级纯); 去离子水; 多元素混合标准溶液,加拿大摠耐睿公司,10 μg/L,编码 S130615011,包含有 Pb、Cd、As、Cu、Hg 5 种元素; 内标标准溶液 Sc、Y、In 和 Tb,国家标准物质研究中心,100 μg/mL; Hg 单元素标准溶液,100 μg/mL,GSB 04-1729-2004; Au 标准储备液,100 mg/L,购自美国 Agilent 公司; 吸附剂 PEP-0 7 g,批号 12-S267-10512,PhosphonicS 有限公司; 灵芝提取物,自制,批次分别为 20140801、20140802、20140803、20140901、20140905,质控指标:灵芝多糖>50.00%。

2 方法与结果

2.1 多元素标准使用液、内标溶液和含 Au 标的 Hg 标准使用液的制备

2.1.1 多元素标准使用液的制备 精密量取适量多元素标准溶液,用 5% HNO₃ 稀释成标准储备液,将储备液用 5% 的 HNO₃ 逐级稀释成质量浓度为 1 μg/mL 的混合标准使用液,测试时用 3% HNO₃ 稀释成质量浓度为 0、1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 μg/L 的标准系列溶液。

2.1.2 内标溶液的制备 精密量取适量的 Sc、Y、In 和 Tb 标准溶液,用 5% HNO₃ 稀释成质量浓度为 10 μg/mL 的混合内标储备液,测试时用 3% HNO₃ 稀释成质量浓度为 10 μg/L 内标溶液。

2.1.3 Au 工作溶液 精密量取适量 Au 标准溶液,用 3% HNO₃ 稀释成质量浓度为 10 mg/L 的 Au 工作溶液。

2.1.4 含 Au 标的 Hg 标准使用液的制备 精密量取 Hg 标准储备液适量,加入适量 Au 标准储备液,用 5% HNO₃ 溶液稀释成含 Au 10 μg/L 的 Hg 质量浓度分别为 0.05、0.1、0.5、1、5、10 μg/L 的标准系列溶液。

2.2 供试品溶液制备

精密称定灵芝提取物约 0.2 g 于聚四氟乙烯消解管,加硝酸 6 mL,过氧化氢 2 mL,振荡并预消解 8 h,按照“2.3.1”项下的微波条件处理样品,冷却后于电热板上 100 °C 挥酸至剩余样品至 1~2 mL,转移至 25 mL 量瓶中用去离子水转移,并加入 20 μL Au 工作溶液,定容至 25 mL,空白对照同法操作。采用在线内标加入法将内标溶液和样品消解液一并通过蠕动泵导入电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)系统上机检测。

2.3 仪器参数

2.3.1 微波消解条件(已优化) 步骤 1,温度 100 °C,功率 500 W,维持 5 min; 步骤 2,温度 120 °C,功率 500 W,维持 15 min; 步骤 3,温度 130 °C,功率 800 W,维持 20 min; 步骤 4,温度 150 °C,功率 1 000 W,维持 10 min。

2.3.2 ICP-MS 参数 采用标准检测模式,用调谐液对仪器进行调谐,使氧化物干扰小于 1%,双电荷干扰小于 3%。等离子气流量 15 L/min,辅助气流量 0.9 L/min,冷却气流量 12 L/min,采样深度 8.5 mm,等离子体射频功率 1 200 W,进样稳定时间 10 s,载气流速 0.85 L/min,扫描次数 25。

2.4 方法适应性

将多元素标准系列溶液与内标溶液和含 Au 标的 Hg 标准系列溶液与内标溶液分别配伍注入仪器,依次测定,以每一质量浓度测得的 3 次读数的平均测量值为纵坐标(Y),相应元素标准溶液对应的质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得 5 种元素的线性回归方程: Pb $Y=4\ 876 X+6\ 852.7$, $r=0.999\ 7$,检出限 1.55 μg/L; Cd $Y=509.44 X+38.143$, $r=0.999\ 5$,检出限 0.03 μg/L; Hg $Y=1\ 961.8 X+3.566\ 8$, $r=0.999\ 8$,检出限 0.05 μg/L; As $Y=318.38 X-177.3$, $r=0.999\ 6$,检出限 0.26 μg/L; Cu $Y=259.09 X+221.86$, $r=0.999\ 7$,检出限 0.21 μg/L, Pb、Cd、As、Cu 在各质量浓度 0~100 μg/L、Hg 元素在质量浓度为 0~10 μg/L 内,各元素线性关系良好,检出限均能满足样品分析要求,精密加入约相当于样品本底值中各元素 Pb、Cd、Hg、As 和 Cu 量的 100% 的标准溶液,得加样回收率分别为 98.01%、100.02%、98.01%、107.21%、102.37% ($n=6$),且仪器的精密度良好,各元素 Pb、Cd、Hg、As 和 Cu 的 RSD 值分别为 1.02%、0.98%、0.97%、1.03% 和 0.56%。

2.5 灵芝提取物中重金属元素的测定

采用 ICP-MS 法, 依据已经优化的“2.3”项下仪器工作参数同时测定样品中的 Pb、Cd、Hg、As 和 Cu, 根据标准曲线计算得相应的质量浓度, 扣除相应试剂空白值, 计算灵芝提取物中 5 种重金属的本底量值。

2.6 吸附技术去除重金属

2.6.1 灵芝提取物的水分计算 依据《中国药典》2010 年版附录 VIII L, 测定灵芝多糖的干燥失质量, 计为灵芝提取物的水分量 (X)。

2.6.2 灵芝提取物溶液密度的测定 精密称定烧瓶的质量 (m_1) 和装于质量为 m_1 烧瓶中的 100 mL 灵芝提取物溶液 (质量浓度 0.05 g/mL) 质量 (m_2), 则密度 (ρ) = $(m_2 - m_1) / 100$ 。

2.6.3 加入吸附剂的量计算 根据以下公式计算需要加入吸附剂的量。

$$S_i = \sum [C_A / 1000 \times m / M_A \times 10 / 0.8 \times (100 \times X)]$$

C_A 为固体灵芝提取物中所含金属元素 A 的量 (mg/kg), m 为制备样品溶液所称定的灵芝提取物质量 (g), M_A 为金属元素 A 的摩尔质量 (g/mol), S_i 为需要加入吸附剂的质量 (g)

2.6.4 灵芝提取物溶液的吸附处理 精密称定灵芝提取物约 5 g, 超纯水稀释至 100 mL, 准确量取 20

mL 样品溶液于圆底烧瓶内, 加入 60.7 mg 吸附剂 (依据溶液中所含金属的量计算), 平行 2 份, 对照灵芝提取物 (未加吸附剂) 平行 2 份, 在温度为 30 °C, 转速为 300 r/min 的恒温振荡摇床中振荡 15 h。

将灵芝提取物溶液中的吸附剂滤过除去, 弃去初滤液, 收集续滤液作为吸附后待分析的样品溶液。

2.6.5 重金属测定 分别量取吸附处理前后的灵芝提取物溶液 (相当于固体灵芝提取物 0.25 g), 按“2.2”项下的供试品处理的方法, 按“2.3.2”项中的仪器工作参数进行分析测定吸附前后灵芝提取物中各金属的量及重金属的总量, 平行测定 5 批灵芝提取物, 结果见表 1。结果可知, 经吸附技术处理后的灵芝提取物中各重金属的量明显降低, Pb、Cd、Hg、As、Cu 的平均去除率分别为 73.79%、74.28%、57.73%、76.55%、85.39%, 重金属总量平均去除率高达 81.68%, 吸附处理后各重金属元素和总重金属量均符合国家限量标准, 参考标准 2001 年颁布的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》^[3], 其仅对重金属总量和 Pb、Cd、Hg、As 和 Cu 5 种金属进行了明确的限量要求, 分别为重金属总量 ≤ 20.0 mg/kg, Pb ≤ 5.0 mg/kg, Cd ≤ 0.3 mg/kg, Hg ≤ 0.2 mg/kg, As ≤ 2.0 mg/kg, Cu ≤ 20.0 mg/kg。

表 1 吸附前后灵芝提取物中重金属的量 ($n = 3$)

Table 1 Content of heavy metals in *G. lucidum* extract with or without scavenging ($n = 3$)

批次	Pb/(mg·kg ⁻¹)		Cd/(mg·kg ⁻¹)		Hg/(mg·kg ⁻¹)		As/(mg·kg ⁻¹)		Cu/(mg·kg ⁻¹)		重金属总量/(mg·kg ⁻¹)	
	吸附前	吸附后	吸附前	吸附后								
1	3.98	1.18	2.18	0.51	0.30	0.18	5.02	0.93	23.07	3.02	34.55	5.82
2	2.99	0.56	1.92	0.11	0.56	0.18	3.99	1.83	25.16	3.16	34.62	5.84
3	3.03	0.88	1.09	0.39	0.48	0.16	4.92	0.52	22.04	3.98	31.56	5.93
4	3.62	0.89	1.36	0.38	0.32	0.12	3.12	0.99	18.05	2.99	26.47	5.37
5	3.38	0.62	1.29	0.22	0.62	0.20	4.09	1.30	16.02	2.05	25.40	4.39

2.7 吸附处理前后有效成分灵芝多糖的变化分析

分别量取吸附处理前后的灵芝提取物溶液 (相当于固体灵芝提取物 2.0 g), 参照《中国药典》2010 年版一部中灵芝多糖的测定方法, 测定吸附前后灵芝多糖的量, 结果见表 2。

由表 2 可知, 通过该新型吸附技术处理后 5 批提取物中的有效成分灵芝多糖量变化无显著差异, 其损失率仅在 0.18%~0.67%, 进一步证明该技术可被推荐用于去除灵芝提取物中超标重金属的处理。

3 讨论

本研究中的固体吸附剂是英国 PhosphonicS 公

表 2 吸附前后灵芝多糖的量 ($n = 6$)

Table 2 Content of *G. lucidum* polysaccharide with or without treatment ($n = 6$)

批次	灵芝多糖/%		
	吸附前	吸附后	RSD/%
1	54.36	54.00	0.67
2	55.01	54.86	0.27
3	50.92	50.65	0.53
4	51.09	51.00	0.18
5	53.55	53.31	0.45

司开发的目前国内外尚未研究报道的专利技术,是一种多功能团修饰的硅胶材料,拥有超强的配位基团,相比于药物分子对金属的亲合力更强,现已成功运用于石油、化工与合成产业中如化学合成药物中有毒金属催化剂的去除,贵金属的回收等^[4-5]。

本实验所采用的该类型吸附剂是前期经过大量的筛选研究确定的,不同结构类型的吸附剂对重金属种类,同类重金属的不同价态及氧化态选择性吸附去除作用是不同的^[6]。在保护有效成分的前提下,设定适当的温度、吸附时间及振荡频率梯度,进行考察吸附前后重金属的去除效果及跟踪测定有效成分的量,最终筛选出有效成分不变的前提下,重金属去除效率高的最佳吸附工艺参数,进一步放大至中试水平以验证该方法的可行性。根据本研究的初步结果推测该新型固体吸附技术可用于脱除以灵芝多糖为主要活性成分的中药提取物中的重金属。

自从我国加入 WTO 后,中国商品出口参与国际竞争,必须遵守国际贸易规则,采用国际通用标准,我国传统中药的出口就面临着如何使超标的重金属降下来以突破所谓的“绿色壁垒”的问题^[7]。中药材重金属污染是影响中药质量、制约中药及其制剂成品走出国门的一个瓶颈问题,必须对其高度重视。因此,在降低中药材中重金属量的同时采取有效措施保护有效成分以保持中药药效成为国内外研究者关注的热点^[8]。中药材种植是中药生产的源头,中药材的质量是中药产品的保证,故应按照国家制定的中药材生产质量管理规范(GAP)选定栽种基地并合理运用相关生物技术解决重金属污染的难题,从而在源头上把握好中药质量。考虑到中药材生产涉及多环节的控制,完全从源头控制重金属

的难度较大,也是需要逐步完善的过程。为了解决当前中药出口面临的问题,需要找到快速便捷、适合大规模脱除中药材中重金属的方法,使中药真正达到安全、有效、稳定、可控^[9]。

参考文献

- [1] 罗晓丽, 杨金荣, 李汝佳, 等. 中药中重金属元素测定的研究进展 [J]. 实用医药杂志, 2009, 26(5): 61-63.
- [2] 张楠楠, 季巧玉, 杨凌宇, 等. 超临界 CO₂ 配合萃取技术去除中药中重金属研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2011, 7(1): 147-149.
- [3] 孟 萌, 陈 涛, 李 进. 浅谈中药材中重金属的污染与防治 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1219-1220.
- [4] Mondal B, Wilkes R D, Percy J M, *et al.* Towards a quantitative understanding of palladium metal scavenger performance: an electronic structure calculation approach [J]. *Royal Soc Chem*, 2014, 43(2): 469-478.
- [5] Galaffu N, Man S P, Robin D, *et al.* Highly functionalised sulfur-based silica scavengers for the efficient removal of *Palladium* species from active pharmaceutical ingredients [J]. *Org Proc Res Dev*, 2007, 11(3): 406-413.
- [6] Reginato G, Sadler P, Robin D W. Scaling up metal scavenging operations for pharmaceutical pilot plant manufactures [J]. *Org Proc Res Dev*, 2011, 15(6): 1396-1405.
- [7] 陈家春, 贾敏如. 中、美、英、日和欧洲药典中植物药重金属和农药残留量的限量规定及分析 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(6): 525-527.
- [8] 王先良, 王小利, 徐顺清. 大孔螯合树脂可用于处理中药重金属污染 [J]. 中成药, 2005, 27(12): 1376-1379.
- [9] 吴晓波, 薛 健. 中药重金属污染的现状及管理对策概况 [J]. 江苏中医药, 2010, 42(6): 77-79.