

ICP-MS法测定云南野生茯苓中矿质元素含量

孙景^{1,2,3}, 张霁^{1,2}, 赵艳丽^{1,2}, 王元忠^{1,2,*}

(1.云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650200; 2.云南省省级中药原料质量监测技术服务中心, 云南 昆明 650200;

3.云南中医学院中药学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 建立微波消解电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)法测定云南野生茯苓中Li、Mg、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Rb、Sr、Cs、Pb 15种矿质元素的分析方法, 研究云南野生茯苓中矿质元素的含量分布特征。使用ICP-MS法对采集自云南省28个地区野生茯苓样品中15种矿质元素进行定量分析, 并采用SPSS进行主成分分析, 相关性分析和聚类分析对测定结果进行评价。结果显示, 元素线性回归方程的相关系数 r 均大于0.999 0, 15种测定元素均在推荐值(真实值)范围内, 其相对标准偏差均小于8%, 表明该方法具有较好的准确度和精密度, 适用于云南野生茯苓中矿质元素的测定。所测试野生茯苓中含有丰富的矿质元素, 其中Ca (925.79 $\mu\text{g/g}$)、K (370.42 $\mu\text{g/g}$)、Mg (115.20 $\mu\text{g/g}$)和Fe (115.80 $\mu\text{g/g}$)的含量较高, 有毒重金属As (0.04 $\mu\text{g/g}$)和Pb (0.20 $\mu\text{g/g}$)的含量均未超出GB 2672—2012《食品中污染物限量》及联合国粮农组织/世界卫生组织关于有毒重金属限量标准。主成分分析结果显示前4个主成分可以解释全部变量信息的77.55%, 得出云南野生茯苓的特征元素为V、Fe、Li、As、Cs、Cr、Pb、Sr、Ca、Mn。聚类分析将所测元素分为3类, 其中Fe、V、Li、Cs、As、Cr、Pb聚为一类, K、Rb、Zn、Mg、Cu、Mn聚为一类, Ca、Sr聚为一类, 元素之间的相关性和聚类分析结果与主成分分析的结果一致。不同产地茯苓样品的聚类分析结果表明, 样品中矿质元素均存在很大差异, 这可能是野生茯苓样品中矿质元素含量受云南地形地貌, 气候特征影响较大。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 茯苓; 矿质元素; 主成分分析; 聚类分析

Determination of Mineral Elements of Wild *Wolfiporia extensa* Collected from Yunnan by ICP-MS

SUN Jing^{1,2,3}, ZHANG Ji^{1,2}, ZHAO Yanli^{1,2}, WANG Yuanzhong^{1,2,*}

(1. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200, China;

2. Yunnan Technical Center for Quality of Chinese Materia Medica, Kunming 650200, China;

3. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: This study was undertaken to investigate the distribution characteristics of mineral elements in wild *Wolfiporia extensa*. Fifteen elements including Li, Mg, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Cs, and Pb in the sclerotia of *W. extensa* collected from 28 regions of Yunnan province were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) after microwave digestion. The measurement data were analyzed by SPSS through principle component analysis (PCA), correlation analysis, and cluster analysis (CA). The results showed that the correlation coefficients (r) of the linear regression equations of the anayte elements were all above 0.999 0, the measured values of standard reference materials were in agreement with the certified values, and the relative standard deviations (RSDs) were all below 8%. Hence this method is suitable for the determination of mineral elements of wild *W. extensa* because of its good precision and accuracy. Our analysis results indicated that wild *W. extensa* collected from Yunnan contained many kinds of mineral elements. The concentration levels of Ca (925.79 $\mu\text{g/g}$), K (370.42 $\mu\text{g/g}$), Mg (115.20 $\mu\text{g/g}$), and Fe (115.80 $\mu\text{g/g}$) were the highest, and the levels of toxic elements As and Pb were below the maximum safe limits stipulated in the *Standard for Maximum Levels of Contaminants in Foods* (GB 2762—2012) and the FAO/WHO standards. The results of PCA indicated that 4 principal components were chosen to examine the dataset which could explain 77.55% of the total variance. V, Fe, Li, As, Cs, Cr, Pb, Sr, Ca, and Mn were inferred to be the characteristic elements in wild *W. extensa*. The results of correlation analysis and CA were in agreement with PCA. All the tested elements could be grouped into three clusters: Fe, V, Li, Cs, As, and Cr as

收稿日期: 2015-11-15

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31460538)

作者简介: 孙景(1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与开发。E-mail: fanhang1989@126.com

*通信作者: 王元忠(1981—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为药用植物资源。E-mail: yzwang1981@126.com

the first cluster; and Pb, K, Rb, Zn, Mg, and Cu as the second cluster; and Mn, Ca and Sr as the third cluster. The results of CA indicated that there were significant differences in the contents of mineral elements mainly because the mineral element contents of wild *W. extensa* were greatly influenced by the topography and climate characteristics of Yunnan province.

Key words: inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS); *Wolfiporia extensa*; mineral elements; principle component analysis; cluster analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614012

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)14-0068-06

引文格式:

孙景, 张霁, 赵艳丽, 等. ICP-MS法测定云南野生茯苓中矿质元素含量[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 68-73. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614012. <http://www.spkx.net.cn>

SUN Jing, ZHANG Ji, ZHAO Yanli, et al. Determination of mineral elements of wild *Wolfiporia extensa* collected from Yunnan by ICP-MS[J]. Food Science, 2016, 37(14): 68-73. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614012. <http://www.spkx.net.cn>

食用菌因其味道鲜美、富含蛋白质、氨基酸、多糖、矿质元素等功能性营养成分, 具有很高的食用和药用价值^[1-2]。近年来, 食用菌得到广泛的关注^[3-4]。矿质元素在维持机体正常的能量转换和新陈代谢等方面发挥着极其重要的作用^[5]。人体所需要的矿质元素必须从食物或者饮水中获得^[6]。矿质元素含量过高或过低都会对人体产生不利的影响^[7-9]。

茯苓(*Wolfiporia extensa* (Peck) Ginns)为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核^[10]。多依附在松科植物赤松或马尾松的根部生长, 主要分布在云南、湖北、安徽、湖南等省, 其中以云南所产品质最佳, 称为“云苓”^[11]。茯苓中主要成分为三萜类成分、茯苓多糖、挥发性成分和多种矿质元素及其他一些成分。具有抗肿瘤、抗炎、保肝和免疫调节的作用^[12-13]。茯苓以其独特的食用和药用价值在亚洲许多国家都有着广泛的应用^[14-16]。在中国, 茯苓被做成茯苓夹饼、茯苓糕、八珍茯苓糕等食品, 深受广大市民的喜爱。关于茯苓中化学成分及不同产地的鉴别研究较多^[17]。而茯苓中矿质元素含量的研究较少。

本实验主要采用微波消解对样品前处理, 并使用电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)仪测定云南省28个地区野生茯苓菌核中15种矿质元素的含量, 并使用SPSS对测定结果进行主成分分析、相关性分析、聚类分析, 对云南省野生茯苓中矿质元素的含量整体评价, 为深入研究药食两用真菌茯苓提供数据依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生茯苓样品均于2013—2014年采自云南省28个地区, 如表1所示。由云南农业大学刘鸿高教授鉴定为茯苓。每地区采集样品数量不小于5, 所有样品采集地点均

未受到当地产业或者有重金属排放等活动影响的农村、山上或者森林地区。

表1 茯苓样品采集信息

Table 1 Detailed information about sample locations, numbers, origins, altitudes and coordinates of *W. extensa*

编号	地区	数量/个	来源	海拔/m	纬度	经度
1	玉溪市元江县青龙厂镇它克村	18	野生	1588	N23°48'23.21"	E102°51'59.41"
2	玉溪市元江县因远镇山河寨	17	野生	1649	N23°22'25.26"	E101°51'07.71"
3	文山州文山县马塘镇土基冲	18	野生	1464	N23°49'50.37"	E103°57'25.26"
4	文山州丘北县腻脚乡架木革村	6	野生	1960	N23°59'02.75"	E103°48'13.72"
5	红河州泸西县中枢镇得村	7	野生	1973	N24°34'13.53"	E103°50'06.64"
6	玉溪市新平县扬武镇赵米克	7	野生	1579	N23°55'22.66"	E102°08'02.13"
7	普洱市镇沅县勐大镇文开村	5	野生	1371	N24°04'38.40"	E100°47'25.80"
8	保山市腾冲县团田乡曼哈村老营坡	24	野生	1512	N24°42'15.61"	E98°37'08.94"
9	红河州弥勒县东山镇后山菁	5	野生	2045	N24°15'40.87"	E103°38'03.87"
10	红河州石屏县宝秀镇白洒文	7	野生	1462	N23°46'23.46"	E102°25'37.57"
11	红河开远市小龙潭镇阿久碑	7	野生	1628	N24°00'11.71"	E102°59'01.15"
12	玉溪市峨山县大龙潭乡马拉依	8	野生	1820	N24°25'49.52"	E102°05'10.50"
13	楚雄市八角镇白泥塘	5	野生	2061	N24°52'38.66"	E100°56'32.24"
14	玉溪市峨山县塔甸镇鹏展村	5	野生	1389	N24°15'18.00"	E102°11'28.30"
15	楚雄市南华县一街乡黑么蚌	5	野生	2181	N25°11'08.34"	E100°55'14.46"
16	楚雄市东瓜镇邓官村麦地冲	9	野生	2056	N25°07'31.40"	E101°35'06.35"
17	普洱市景东县林街乡芭蕉箐	5	野生	1567	N24°26'44.55"	E100°33'36.80"
18	楚雄市双柏县爱尼山乡大岭岗村	6	野生	1818	N24°28'08.31"	E101°32'52.62"
19	普洱市景东县文景镇铜关箐	5	野生	1346	N24°18'19.03"	E100°57'56.03"
20	玉溪市峨山县甸中镇中营	5	野生	1921	N24°23'17.25"	E102°15'29.57"
21	楚雄市南华县红土坡镇迤头村	7	野生	2245	N25°01'47.28"	E100°51'21.06"
22	玉溪市新平县腰街镇	13	野生	615	N23°57'43.30"	E101°39'39.34"
23	玉溪市新平县城磨盘山	10	野生	1741	N23°54'14.40"	E101°58'55.98"
24	玉溪市新平县平掌乡蹬蹬山	5	野生	2138	N23°48'15.95"	E101°33'56.50"
25	迪庆州维西县保和镇色马底	10	野生	3200	N27°12'31.01"	E99°16'37.71"
26	大理州永平县北斗乡北斗村	20	野生	1943	N25°32'09.82"	E99°41'05.70"
27	怒江兰坪县石登乡水银厂村	27	野生	2495	N26°40'2.12"	E99°11'20.69"
28	文山县薄竹镇	13	野生	1504	N23°28'29.99"	E103°56'50.35"

65%硝酸(优级纯)、30%双氧水(分析纯) 广东西陇化工股份有限公司; 多元素标准储备液: Li、Mg、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Rb、Sr、Cs和Pb(10 mg/L和100 mg/L) 美国PE公司; 国家标准物

质：菠菜叶（GBW10015）、灌木枝叶（GBW07603）地球物理地球化学勘察研究所。

1.2 仪器与设备

NexION300型ICP-MS仪 美国PE公司；MARS 6高通量密闭微波消解仪 美国CEM公司；实验用水均为超纯水，电阻率为18.2 MΩ·cm。

1.3 方法

1.3.1 仪器参数

NexION300型ICP-MS仪参数分别为：采样锥孔径为1.1 mm，截取锥孔径为0.88 mm，分离锥孔径为1.0 mm。仪器正常工作时的射频功率为1 600 W，氦气流量为15 L/min，氦气流量为5 mL/min，样品重复次数为3次，采样深度为6.5 mm，样品进样速率为0.1 mL/min，采用模式为动能歧视模式。冲洗延时45 s，读数延迟30 s，冲洗时间30 s。

1.3.2 样品预处理

新鲜茯苓样品用不锈钢刀和毛刷清理干净，并分为白色的茯苓菌核和茯苓皮。所有样品均在室温条件下阴干半干或全干，并将样品置于烘箱中于50℃烘干后粉碎，过100目筛备用。

准确称取0.2 g（精确至0.000 1 g）茯苓样品于聚四氟乙烯消解罐中，加入6 mL浓硝酸和3 mL双氧水，在设定好条件下消解，见表2。待消解完全，冷却后，将消解液转移至比色管中，以少量超纯水洗涤消解罐与盖子3~4次，合并洗液，定容至25 mL，摇匀，放置澄清后待测。以同样的方法制备空白对照和菠菜标准物质（GBW10015）与灌木枝叶标准物质（GBW07603）消解液。

表2 茯苓样品微波消解程序

步骤	功率/kW	压力/MPa	温度/℃	爬升时间/min	保持时间/min
1	1.8	4.5	20~120	10	10
2	1.8	4.5	120~150	10	10
3	1.8	4.5	150~200	10	40

1.3.3 建立标准曲线

取10 mg/L的多元素混合标准溶液，加体积分数5%硝酸溶液（以浓硝酸为基准），配制成0、0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、1 μg/mL的混合标准液，用于测定Li、V、Cr、Mn、Cu、Zn、As、Rb、Sr、Cs和Pb元素的标准曲线。取100 mg/L的多元素混合标准溶液，加体积分数5%硝酸溶液配制成0、0.5、1、2、5、10、20 μg/mL的混合标准液，用于测定K、Mg、Fe和Ca元素的标准曲线。

1.4 数据处理

实验数据应用Microsoft Excel 2013对数据进行初步处理。并用SPSS 21.0统计软件进行主成分分析、聚类分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 方法的精密度和检出限（limit of detection, LOD）

表3 元素线性回归方程、相关系数、LOD及RSD
Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients^a, LODs, and RSDs for the elements

元素	回归方程	相关系数 r	LOD/(μg/L)	RSD/%
Li	$y=0.183\ 241x+8.405\ 83$	0.999 9	0.013 0	5.95
Mg	$y=0.530\ 955x+26.680\ 2$	0.999 3	0.110 0	2.97
K	$y=1.048\ 83x+67.701\ 7$	0.999 8	0.100 0	2.44
Ca	$y=0.018\ 046\ 2x+0.827\ 669$	0.999 7	0.390 0	5.72
V	$y=0.855\ 332x+39.236\ 7$	0.999 9	0.024 0	7.22
Cr	$y=1.870\ 03x+85.783\ 9$	0.999 9	0.059 0	6.66
Mn	$y=0.589\ 043x+27.022\ 6$	0.999 9	0.032 0	2.32
Fe	$y=0.221\ 874x+10.178$	0.999 2	0.100 0	5.99
Cu	$y=5.949\ 41x+298.67$	0.999 9	0.015 0	7.90
Zn	$y=1.618\ 67x+90.847\ 5$	0.999 5	0.011 0	7.47
As	$y=0.109\ 491x+5.022\ 67$	0.999 9	0.001 3	5.51
Rb	$y=0.801\ 228x+36.754\ 8$	0.999 9	0.096 0	3.40
Sr	$y=0.697\ 881x+32.013\ 9$	0.999 9	0.003 8	4.75
Cs	$y=1.804\ 44x+82.775\ 3$	0.999 9	0.001 2	6.20
Pb	$y=15.065\ 9x+691.12$	0.999 9	0.008 9	6.87

根据茯苓中不同元素的含量，选择合适的质量浓度范围绘制元素标准曲线方程，如表3所示，15种元素的线性回归方程相关系数 r 均大于0.999 0。按照1.3.2节方法对茯苓样品及标准物质平行称量5次进行消解处理，测定含量，计算测定方法的相对标准偏差（relative standard deviation, RSD），结果表明RSD值均小于8%。表明该实验方法的精密度良好。通过对11次样品空白测量所得的标准偏差的3倍计算各元素的检出限，结果显示LOD在0.001 2~0.390 0 μg/L范围内。

2.2 方法验证

表4 菠菜叶（GBW10015）和灌木枝叶（GBW07603）15种元素的测定结果（ $n=5$ ）

元素	菠菜叶 (GBW10015)		灌木枝叶 (GBW07603)	
	测定值	真实值	测定值	真实值
Li	1.5±0.097	1.46±0.23	2.64±0.161	2.6±0.4
Mg	5 620±136	5 520±150	4 690±180	4 800±400
K	25 100±768	24 900±1 100	9 810±957	9 200±1 000
Ca	6 570±212	6 600±300	17 200±890	16 800±1 100
V	0.763±0.088	0.87±0.23	2.1±0.252	2.4±0.4
Cr	1.22±0.267	1.4±0.2	2.38±0.487	2.6±0.2
Mn	44±6.9	41±3	60.4±3.76	61±5
Fe	547±18.6	540±20	1 120±53.4	1 070±57
Cu	9±0.44	8.9±0.4	6.75±0.639	6.6±0.8
Zn	32.7±2.11	35.3±1.5	19±2.35	20.6±2.2
As	0.231±0.026	0.23±0.03	1.21±0.108	1.25±0.15
Rb	33.6±2.43	30±2	3.75±0.656	4.5±0.6
Sr	88.9±3.34	87±5	250±14.3	246±16
Cs	0.124±0.012	0.13±0.02	0.254±0.024	0.27±0.02
Pb	11.2±0.48	11.1±0.9	46.4±1.34	47±3

实验采用标准物质菠菜叶 (GBW10015) 和灌木枝叶 (GBW07603) 对方法的准确度进行验证, 结果见表4。标准物质的元素测定值在推荐值 (真实值) 范围内, 能满足实验要求。

2.3 野生茯苓菌核矿质元素含量分析

采用ICP-MS对消解液进行测定, 每样品平行称量5次, 取平均值, 各矿质元素的含量如表5所示。野生茯苓菌核中含有丰富的矿质元素, 其中Mg (115.20 $\mu\text{g/g}$)、K (370.42 $\mu\text{g/g}$)、Ca (925.79 $\mu\text{g/g}$)、Fe (115.80 $\mu\text{g/g}$) 含量最高; Mn、Cu、Zn、Rb、Sr元素含量在1~20 $\mu\text{g/g}$ 之间; V、Cr、Pb元素含量均小于1 $\mu\text{g/g}$; Li、As、Cs元素含量最低, 均小于0.1 $\mu\text{g/g}$ 。同时, 由表5可知, 同种元素在不同产地的茯苓菌核中含量有明显的差异, 这可能与云南这一地区的地貌气候特征, 以及样品来源有关。

从表5可以看出, 在含量高于100 $\mu\text{g/g}$ 的元素中, Ca含量在所测元素中最高, 其中12号样品中Ca含量最高达3 585.23 $\mu\text{g/g}$, 7号样品中Ca含量最低为112.56 $\mu\text{g/g}$ 。其次为K的含量, 最高含量在21号样品中为1 473.40 $\mu\text{g/g}$, 最低在28号样品中为107.98 $\mu\text{g/g}$ 。Mg和Fe的含量最少, 最高含量分别为197.09 $\mu\text{g/g}$ 和596.46 $\mu\text{g/g}$, 最低含量分别为66.52 $\mu\text{g/g}$ 和31.86 $\mu\text{g/g}$ 。Tel等^[18]测定了采自Anatolia的24种野生蘑菇, 蘑菇样品中除Ca含量较茯苓低以外, K、Mg和Fe含量均比茯苓中较高。而李丽等^[19]研究结果也表明, 云南野生食用菌中Ca含量比野生茯苓中低, 而大多数野生食用菌中K、Mg和Fe含量较野生茯苓中高。

Mn、Cu、Zn是人体必需的矿质元素, 本实验所测28个地区野生茯苓中Mn、Cu、Zn的含量范围分别为2.37~44.70、1.44~10.59、0.68~5.47 $\mu\text{g/g}$ 。云南野生食用菌中Mn、Cu、Zn含量较野生茯苓中高^[20]。Podlasińska等^[21]对采集自波兰的大型真菌 (食用真菌、药用真菌和有毒真菌) 研究结果显示, Mn元素含量与野生茯苓中基本一致, 而Cu和Zn元素含量比本实验测定结果较高。

野生茯苓中Cr、Rb、Sr的含量较低, 其中28个地区样品中3种元素的最高含量分别为1.32、3.29、12.67 $\mu\text{g/g}$, 而元素Li、V、Cs的含量均小于1 $\mu\text{g/g}$ 。As、Pb作为有毒重金属元素, 受到人们的广泛关注, 测定结果显示云南野生茯苓样品中As (0.04 $\mu\text{g/g}$)、Pb (0.20 $\mu\text{g/g}$) 含量相对较低^[22-23], 并未超过食品安全国家标准^[24]及联合国粮农组织与世界卫生组织关于有毒重金属限量标准^[25-26]。

大量研究表明, 食用菌可富集大量矿质元素^[3,7], 而野生茯苓中除Ca元素含量较高外, 其他所测元素与食用菌相比, 含量均不同程度偏低, 这可能与茯苓的生长方式有关。

表5 野生茯苓样品中元素含量

Table 5 Contents of 15 elements in wild samples of *W. extensa*

$\mu\text{g/g}$															编号
Li	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Rb	Sr	Cs	Pb	
0.33	100.42	284.63	810.72	0.96	1.01	12.10	596.46	3.29	2.77	0.09	2.05	4.93	0.12	0.57	1
0.01	81.63	195.38	605.44	0.06	0.33	8.37	49.88	3.05	2.89	0.02	0.27	4.00	0.00	0.27	2
0.07	73.54	221.00	3 227.91	0.40	0.10	14.25	169.7	2.26	3.09	0.06	0.38	4.44	0.08	0.21	3
0.04	143.23	337.88	118.74	0.10	0.07	2.37	85.19	3.26	3.54	0.01	0.35	1.30	0.01	0.06	4
0.04	128.04	297.50	355.55	0.08	<LOD	13.56	56.99	3.67	4.83	0.02	1.60	2.28	0.01	0.03	5
0.08	153.30	502.88	237.04	0.18	0.11	21.92	101.18	3.91	3.89	0.04	2.29	1.74	0.02	0.15	6
0.21	197.09	1 273.17	112.56	0.42	0.49	29.21	229.80	6.01	5.47	0.05	3.16	0.55	0.08	0.18	7
0.23	158.80	705.90	158.55	0.51	1.16	42.98	224.43	3.15	5.40	0.06	3.29	0.78	0.07	0.27	8
0.10	98.57	155.65	2 752.91	0.18	1.32	11.77	110.82	2.15	1.89	0.04	0.36	8.30	0.02	0.28	9
0.04	88.77	177.63	391.00	0.10	0.26	24.13	56.93	3.34	3.21	0.04	0.83	1.82	0.01	0.26	10
0.08	123.72	285.44	224.81	0.16	0.42	29.93	94.74	3.43	2.82	0.04	1.27	0.81	0.01	0.21	11
0.03	96.53	139.07	3 585.23	0.11	0.29	13.93	70.33	2.32	2.18	0.03	0.48	12.67	0.02	0.21	12
0.12	193.87	234.36	517.04	0.54	0.59	26.80	176.56	10.59	2.91	0.07	1.06	3.38	0.03	0.26	13
0.07	100.77	115.76	322.04	0.44	0.53	10.60	128.07	2.69	2.22	0.06	0.99	1.56	0.02	0.03	14
0.05	73.68	118.04	1 077.43	0.19	0.33	7.01	91.94	1.8	2.23	0.03	0.63	1.72	0.01	0.10	15
0.05	174.50	209.58	323.52	0.21	0.42	44.70	111.91	3.63	3.86	0.03	0.72	2.13	0.02	<LOD	16
0.04	66.52	409.62	1 464.16	0.10	0.18	14.25	81.87	2.63	1.85	0.04	0.59	9.86	0.01	0.22	17
0.07	97.25	209.91	704.69	0.47	0.44	15.81	135.71	1.96	1.85	0.05	0.79	4.52	0.02	0.58	18
0.05	113.99	146.19	1 211.32	0.31	0.54	13.99	108.30	1.96	1.28	0.03	0.57	3.48	0.01	0.30	19
0.02	100.78	741.38	1 251.38	0.08	0.26	13.38	58.71	4.87	3.84	0.02	1.14	4.32	<LOD	0.06	20
0.02	138.92	1 473.40	648.64	0.17	0.32	11.24	108.32	3.30	2.94	0.06	1.68	6.07	0.02	0.35	21
0.04	77.85	316.81	2 920.80	0.12	0.37	8.01	77.22	2.29	1.10	0.02	0.67	12.49	0.02	0.14	22
0.03	141.16	255.72	223.05	0.18	0.38	35.39	69.56	2.36	1.38	0.03	0.72	1.56	0.01	0.11	23
0.03	95.17	164.18	459.11	0.11	0.29	9.76	47.22	1.44	0.68	0.02	0.71	2.76	<LOD	0.14	24
0.03	71.07	403.81	558.10	0.04	0.16	8.04	31.86	2.24	1.94	0.03	0.80	1.94	<LOD	0.03	25
0.05	76.20	710.43	139.16	0.07	0.23	35.63	47.72	2.16	3.97	0.01	0.78	0.84	0.04	<LOD	26
0.06	131.23	118.48	516.10	0.08	0.18	10.44	51.37	1.78	3.45	0.01	0.24	2.66	0.01	0.07	27
0.07	128.94	107.98	1 005.25	0.17	0.10	12.91	69.51	3.60	2.92	0.05	0.32	6.18	0.01	0.63	28
0.07	115.20	370.42	925.79	0.23	0.39	17.95	115.80	3.19	2.87	0.04	1.03	3.90	0.02	0.20	平均

注: <LOD.未检出。

2.4 多元统计分析

2.4.1 茯苓中矿质元素的主成分分析

对28个地区的茯苓样品15种矿质元素含量测定值标准化后进行主成分分析 (表6), 载荷图见图1。由表6可知, 特征值大于1的前4个主成分的累计贡献率达到77.55%。第1主成分的特征值为5.12, 解释原始数据变量信息的34.13%, 其中V、Fe、Li、As、Cs、Cr、Pb有较高的载荷值, 说明V、Fe、Li、As、Cs、Cr、Pb等元素对第1主成分有较高的贡献率; 第2主成分的贡献率为16.84%, 特征值为2.53, Sr、Ca、Mn在第2主成分上有较高的载荷, 表明Sr、Ca、Mn元素与第2主成分主有较高的相关性; 第3、4主成分的贡献率分别为15.28%和11.30%, 特征值分别是2.29和1.69, 由表6可知, 其中第3主成分和第4主成分分别与K、Rb、Zn和Cu、Mg等元素有较高的相关性。因总方差50.97%的贡献率来自前2个主成分因子, 故可认为野生茯苓菌核中特征元素为V、Fe、Li、As、Cs、Cr、Pb、Sr、Ca、Mn。

表6 茯苓中矿质元素主成分分析结果矩阵
Table 6 Rotated component matrix of PCA results for 15 mineral elements of *W. extensa*

元素	主成分			
	1	2	3	4
V	0.944	-0.100	-0.013	0.159
Fe	0.940	-0.034	0.136	0.018
Li	0.903	-0.185	0.269	0.067
Cs	0.835	-0.020	0.408	-0.075
As	0.831	0.096	0.037	0.324
Cr	0.712	-0.018	-0.004	-0.007
Pb	0.604	0.335	-0.233	0.229
Sr	0.012	0.941	-0.080	-0.010
Ca	0.050	0.862	-0.081	-0.194
Mn	0.142	-0.520	0.305	0.255
K	0.002	0.016	0.862	0.154
Zn	0.064	-0.417	0.710	0.220
Rb	0.457	-0.317	0.705	0.176
Cu	0.140	-0.111	0.186	0.880
Mg	0.128	-0.414	0.305	0.722
特征值	5.12	2.53	2.29	1.69
贡献率/%	34.13	16.84	15.28	11.30
累计贡献率/%	34.13	50.97	66.25	77.55

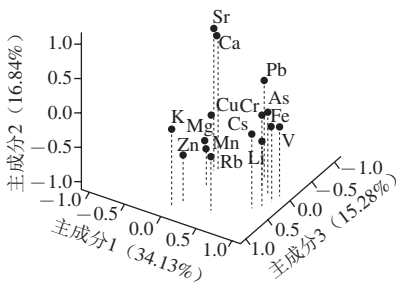


图1 茯苓中元素主成分分析载荷图

Fig. 1 Loading plot of the first three principal components for 15 mineral elements of *W. extensa*

2.4.2 茯苓中元素相关性分析

表7 茯苓中15种元素的相关性分析
Table 7 Correlation analysis of 15 elements of *W. extensa*

元素	Li	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Rb	Sr	Cs	Pb
Li	1														
Mg	0.348	1													
K	0.183	0.330	1												
Ca	-0.142	-0.458	-0.239	1											
V	0.849*	0.267	0.022	-0.060	1										
Cr	0.661	0.162	0.016	0.090	0.595	1									
Mn	0.281	0.521	0.221	-0.363	0.176	0.260	1								
Fe	0.908	0.193	0.117	-0.029	0.915	0.572	0.105	1							
Cu	0.283	0.656	0.253	-0.241	0.307	0.080	0.288	0.219	1						
Zn	0.373	0.536	0.484	-0.390	0.112	-0.012	0.450	0.178	0.404	1					
As	0.689	0.230	0.154	0.023	0.841	0.499	0.150	0.753	0.376	0.076	1				
Rb	0.678	0.528	0.636	-0.387	0.470	0.350	0.444	0.506	0.353	0.628	0.459	1			
Sr	-0.156	-0.376	-0.110	0.821	-0.104	0.066	-0.394	-0.027	-0.155	-0.458	0.031	-0.337	1		
Cs	0.866	0.191	0.276	0.082	0.805	0.462	0.270	0.870	0.176	0.384	0.665	0.567	-0.063	1	
Pb	0.414	-0.003	-0.042	0.139	0.512	0.329	-0.122	0.479	0.059	-0.163	0.616	0.082	0.304	0.321	1

注：*：显著相关（ $P<0.05$ ）。

实验测定野生茯苓中15种元素的含量，各矿质元素之间存在一定的相关性，如表7所示。Rb与除Cr、Cu、Sr、Pb以外的10种元素均有相关性，其中Rb与Li、Mg、V、Mn、Fe、Zn、As、Cs呈显著正相关，且与Ca呈显著负相关；Li、V、Fe、As、Cs、Cr 6个元素相互之间均存在显著正相关；Mg、Cu、Zn 3个元素相互存在显著正相关；K、Rb、Zn 3个元素相互也存在显著正相关；Sr只与Ca呈显著正相关，且与Mg、Mn、Zn均呈显著负相关。元素间相关性较强，表明此类元素可能在茯苓生长过程中存在内在的相关关系^[27]。

2.4.3 茯苓中元素聚类分析

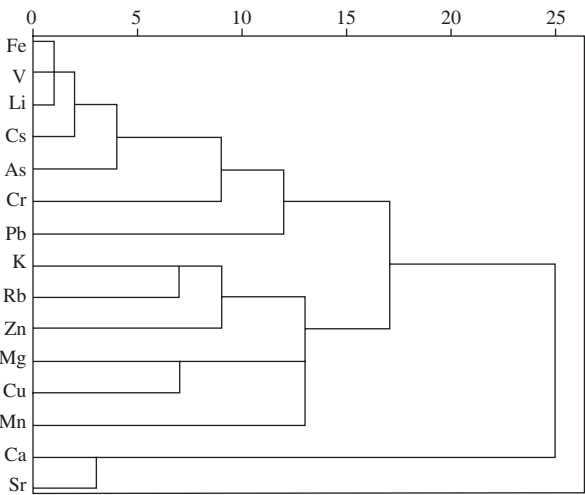


图2 野生茯苓中所测15种元素聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of CA for 15 elements in wild *W. extensa*

采用Average Linkage（Between Groups）和Pearson相关性系统聚类方法，对所测15种元素进行聚类分析。由图2可知，以Pearson相关系数为15对聚类结果分析，聚类分析树状图将所测元素分为3类，其中Fe、V、Li、Cs、As、Cr、Pb聚为一类；K、Rb、Zn、Mg、Cu、Mn聚为一类；Ca、Sr聚为一类。这与野生茯苓中矿质元素主成分分析和相关性分析的结果一致。这种聚类结果与茯苓生长过程中的生理需要或者外部环境相互作用相关。

2.4.4 茯苓产地聚类分析

如图3所示，以Pearson相关系数为10对聚类结果分析可知，结果虽能将28个地区样品分为2类，但在同一市辖区内所有的采样点的样品并不能很好地聚集在一起，这可能与野生茯苓中矿质元素含量受云南省的地区、地形、地貌及气候特征影响较大有关。

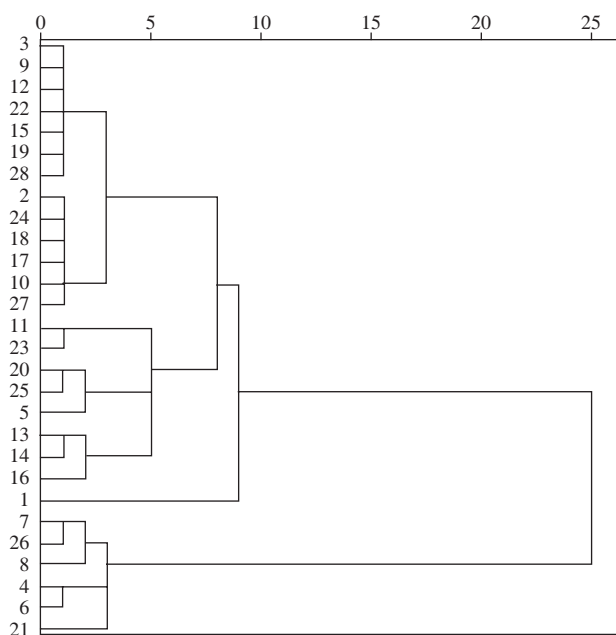


图3 云南省28个地区野生茯苓的聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of CA for wild *W. extensa* from 28 regions in Yunnan province

3 结论

本研究采用ICP-MS测定28个地区野生茯苓菌核中15种矿质元素含量,野生茯苓样品中含有大量矿质元素,不同地区所采集的样品中矿质元素含量存在很大差异。其中Mg、K、Ca、Fe含量最高,其次是Mn、Cu、Zn、Rb、Sr、Li、V、Cr、As、Cs、Pb等元素含量最低。野生茯苓中除Ca元素含量较食用菌高以外,其他元素均较低。有毒重金属As、Pb的含量均未超出GB 2672—2012《食品中污染物限量》及联合国粮农组织/世界卫生组织关于有毒重金属限量标准。

对野生茯苓菌核中所测15种元素的主成分分析结果显示,前4个主成分的累计贡献率达到77.55%,野生茯苓中特征元素为V、Fe、Li、As、Cs、Cr、Pb、Sr、Ca、Mn。元素相关性分析和聚类分析对测定结果与主成分分析结果一致。对产地进行聚类分析结果并没有把同一市辖区内样品聚集在一起,这可能与云南省的地形、地貌、气候特征以及茯苓的生长方式有关。

参考文献:

- WANG X M, ZHANG J, WU L H, et al. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China[J]. Food Chemistry, 2014, 151: 279-285. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.11.062.
- HELENO S A, BARROS L, MARTINS A, et al. Nutritional value, bioactive compounds, antimicrobial activity and bioaccessibility studies with wild edible mushrooms[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(2): 799-806. DOI:10.1016/j.lwt.2015.04.028.
- KALAC P. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000—2009[J]. Food Chemistry, 2010, 122(1): 2-15. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.02.045.
- RENNAM, COCOZZAC, GONNELLAM, et al. Elemental characterization of wild edible plants from countryside and urban areas[J]. Food Chemistry, 2015, 177: 29-36. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.12.069.
- 雷鹏蛟, 王亮, 马远征, 等. 微量元素与骨质疏松的相关性研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(3): 343-346. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2014.03.028.
- ZHANG H, WANG Z Y, YANG X, et al. Determination of free amino acids and 18 elements in freeze-dried strawberry and blueberry fruit using an amino acid analyzer and ICP-MS with micro-wave digestion[J]. Food Chemistry, 2014, 147: 189-194. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.09.118.
- FALANDYSE J, BOROVICKA J. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(2): 477-501. DOI:10.1007/s00253-012-4552-8.
- ZHANG J, LI T, YANG Y L, et al. Arsenic concentrations and associated health risks in Laccaria mushrooms from Yunnan (SW China)[J]. Biological Trace Element Research, 2015, 164(2): 261-266. DOI:10.1007/s12011-014-0213-3.
- FANG Y, SUN X, YANG W, et al. Concentrations and health risks of lead, cadmium, arsenic, and mercury in rice and edible mushrooms in China[J]. Food Chemistry, 2014, 147: 147-151. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.09.116.
- 吴兴亮, 卯晓岚, 图力古尔, 等. 中国药用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 775-777.
- 於小波, 咎俊峰, 王金波, 等. 我国茯苓药材主要产区资源调查[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 714-716. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2011.03.092.
- WANG Y Z, ZHANG J, ZHAO Y L, et al. Mycology, cultivation, traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Wolfiporia cocos* (Schwein.) Ryvarden et Gilb.: a review[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 147(2): 265-276. DOI:10.1016/j.jep.2013.03.027.
- 张敏, 高晓红, 孙晓晖, 等. 茯苓的药理作用及研究进展[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2008, 9(1): 63-68.
- LING Y, CHEN M, WANG K, et al. Systematic screening and characterization of the major bioactive components of *Poria cocos* and their metabolites in rats by LC-ESI-MSⁿ[J]. Biomedical Chromatography, 2012, 26(9): 1109-1117. DOI:10.1002/bmc.1756.
- LU M K, CHENG J J, LIN C Y, et al. Purification, structural elucidation, and anti-inflammatory effect of a water-soluble 1, 6-branched 1,3- α -D-galactan from cultured mycelia of *Poria cocos*[J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 349-356. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.04.126.
- LEE K Y, JEON Y J. Polysaccharide isolated from *Poria cocos* sclerotium induces NF- κ B/Rel activation and iNOS expression in murine macrophages[J]. International Immunopharmacology, 2003, 3(10): 1353-1362. DOI:10.1016/S1567-5769(03)00113-9.
- LI Y, ZHANG J, ZHAO Y, et al. Characteristic fingerprint based on low polar constituents for discrimination of *Wolfiporia extensa* according to geographical origin using UV spectroscopy and chemometrics methods[J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2013, 2014: 519424-519424. DOI:10.1155/2014/519424.
- TEL G, CAVDAR H, DEVECI E, et al. Minerals and metals in mushroom species in Anatolia[J]. Food Additives and Contaminants: Part B, 2014, 7(3): 226-231. DOI:10.1080/19393210.2014.897263.
- 李丽, 蒋景龙, 季晓晖, 等. 野生食用菌中矿物质和重金属研究概况[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 395-400. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.16.072.
- ZHU F, QU L, FAN W, et al. Assessment of heavy metals in some wild edible mushrooms collected from Yunnan Province, China[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2011, 179(1/2/3/4): 191-199. DOI:10.1007/s10661-010-1728-5.
- PODLAASINSKA J, PROSKURA N, SZYMAŃSKA A. Content of Pb, Hg, Zn, Mn, Cu, and Fe in Macrofungi collected from Wkrzanska Forest in Northwestern Poland[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2015, 24(2): 651-656. DOI:10.1007/s10661-010-1728-5.
- LIU B, HUANG Q, CAI H, et al. Study of heavy metal concentrations in wild edible mushrooms in Yunnan Province, China[J]. Food Chemistry, 2015, 188: 294-300. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.05.010.
- ZHANG J, LIU H, LI S J, et al. Arsenic in edible and medicinal mushrooms from Southwest China[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2015, 17(6): 601-605. DOI:10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i6.100.
- 卫生部. GB 2672—2012 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- World Health Organization. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Forty-first Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives[R]. Geneva: WHO, 1993.
- World Health Organization. Summary report of the seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (summary and conclusions)[R]. Rome: WHO, 2010.
- BRZOSTOWSKI A, FALANDYSZ J, JARZYŃSKA G, et al. Bioconcentration potential of metallic elements by Poison Pax (*Paxillus involutus*) mushroom[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2011, 46: 378-393. DOI:10.1080/10934529.2011.542387.