

# 食用蓝藻螺旋藻和葛仙米中金属元素的分析

方倩, 马军国, 李效宇

(河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

**摘要:**采用硝酸和高氯酸(4:1)混合酸消化2种可食用蓝藻螺旋藻和葛仙米,原子吸收光谱法检测螺旋藻和葛仙米中的K、Na、Mg、Ca、Zn、Fe、Cu、Mn、Cr、Pb和Cd共11种金属元素含量。结果表明,2种蓝藻中矿质元素含量均较高,特别是Ca含量高达61 905.132 mg·kg<sup>-1</sup>;而有害重金属Cr、Po和Cd含量均远低于国家规定标准,表明这2种食用蓝藻均无重金属富集或污染。本结果显示,螺旋藻和葛仙米是极好的天然富钙营养食品,可作为人体矿质元素和微量元素缺乏症的补给品。

**关键词:**食用蓝藻;金属元素;含量

**中图分类号:**X171.5

**文献标志码:**A

螺旋藻(*Spirulina*)是一类低等的蓝藻,属于蓝藻门、颤藻目、颤藻科、螺旋藻属,体呈不分枝螺旋形细丝状,长约200~500 μm,宽5~10 μm,属于光合自养原核生物,是地球上出现最早的低等生物之一<sup>[1-2]</sup>。螺旋藻中蛋白质含量非常高,含有全部人类营养必需氨基酸<sup>[3]</sup>。而其脂肪含量低,且富含维生素、矿质元素及增强机体免疫能力的生物活性物质<sup>[4-5]</sup>,目前已成为深受欢迎的保健食品和营养品。

葛仙米(*Nostoc sphaeroides*)是一种多细胞的球状蓝藻,属蓝藻门(Cyanophyta)、念珠藻科(Nostocaceae)、念珠藻属,与地木耳(*Nostoc commune*)和发菜(*Nostoc flagelliforme*)是同一属的低等植物<sup>[6-7]</sup>。葛仙米得名于东晋炼丹术家、医学家、道教理论家葛洪之名<sup>[8]</sup>,是我国一种珍贵的传统出口野生食药两用蓝藻<sup>[9]</sup>,具有久食延年、解热清膈、利肠胃、消除疲劳、收敛、明目益气、治疗夜盲症等作用<sup>[10]</sup>。葛仙米中蛋白含量很高,富含维生素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>和V<sub>C</sub>,含有大量的矿物质<sup>[11]</sup>,可作为高端保健食品开发<sup>[7]</sup>。

已有大量文献报道<sup>[3-5,7,9-14]</sup>,螺旋藻和葛仙米对人体健康具有保健和药用价值,开发应用前景广阔。金属元素检测对评价其食用安全性及矿物质营养价值具有重要意义,可为其开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

螺旋藻购于中科院水生生物研究所,葛仙米购于武汉藻龙生物有限责任公司,之后均由本实验室培养保存。金属元素标准液购于国家标准物质信息中心。

ZEE nit 700 p 原子吸收光谱仪,德国耶拿分析仪器股份公司;SZ-93 自动双重纯水蒸馏器,上海亚荣生化仪器厂;TGL-16 G 台式高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;ALPHA 1-2 LD plus 冷冻干燥仪,上海基汇生物科技有限公司;电子分析天平,北京赛多利斯天平有限公司;X 140622 控温消煮炉,北京市通润源机电技术有限责任公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 待测样品的处理** 将培养的螺旋藻原浆,10 000 r·min<sup>-1</sup>,离心5 min,弃上清液,重复操作,-80 ℃

收稿日期:2015-07-06;修回日期:2015-10-11.

基金项目:国家自然科学基金(31172415;31472285)

第1作者简介:方倩(1988-),女,河南周口人,河南师范大学硕士研究生,研究方向:水环境毒理学,E-mail:fang01020102@126.com.

通信作者:李效宇(1965-),男,河南师范大学教授,博士生导师,E-mail:lixiaoyu65@263.net.

冷冻 30 min, 然后置于冷冻干燥仪中干燥 48 h, 即得到螺旋藻粉(如 2.1 图 c).

用吸水纸将葛仙米表面水分吸干, 置阴凉通风处自然风干(如 2.1 图 b), 经粉碎机粉碎保存备用.

称取上述螺旋藻粉和葛仙米粉 0.5 g 或 1.0 g 各 3 份, 置于洁净的 50 mL 三角瓶中, 加入硝酸和高氯酸混合消化, 于消煮炉上加热至煮沸蒸干, 待冷却至室温, 娃哈哈纯净水溶解, 少量多次转移至 25 mL 比色管, 过滤, 分装, 待测. 为了避免其他的离子对 Ca 和 Mg 离子测定的干扰, 对消化产物定容前要加入一定量的  $\text{SrCl}_2$  [15].

**1.2.2 原子吸收光谱工作条件** 根据不同元素的性质差异, 不同元素检测时所用的波长、狭缝、灯电流、PMT 电压及火焰的燃烧头高度均做特异性设置(见表 1).

**1.2.3 标准溶液的配制与曲线绘制** 根据不同元素含量及其性质的差别, 各金属元素标准溶液质量浓度  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 分别稀释成 10.0、5.0、2.0、1.0、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 和  $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准液, 置于离心管中,  $4^\circ\text{C}$  冰箱保存备用. 按照上述光谱条件进样, 绘制标准曲线, 并得出线性回归方程.

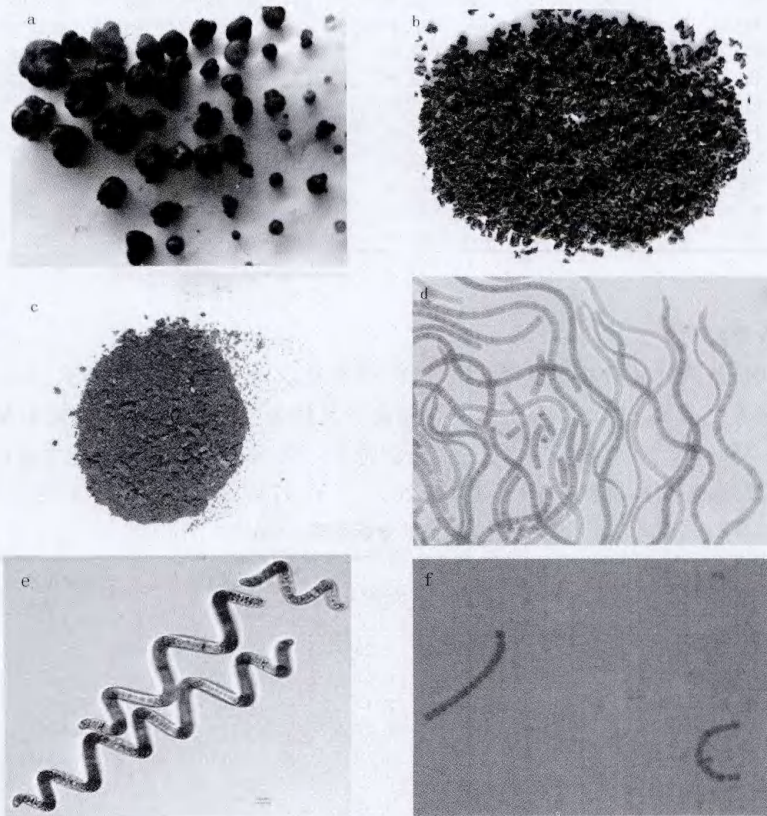
**1.2.4 样品分析** 打开原子吸收光谱仪预热 30 min, 用 1% 的稀硝酸和纯净水多次清洗进样管, 待火焰稳定之后, 在相同的原子光谱条件下, 分别进样标准溶液和待测样品, 以吸光值比较.

**1.2.5 实验数据** 实验数据用 Excel 进行统计分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 样品处理前形态结构

本研究室大规模通气培养获得大量螺旋藻和葛仙米, 其群体结构及微观结构如图 1 所示.



a: 新鲜葛仙米群体; b: 自然风干后的葛仙米; c: 螺旋藻干粉; d: 螺旋藻显微结构(20×10倍); e: 螺旋藻显微结构(40×10倍); f: 葛仙米显微结构(40×10倍).

图1 葛仙米和螺旋藻的形态和显微结构图

## 2.2 原子吸收光谱条件的选择

不同元素测定时,仪器运行的最适条件如表1所示.

表1 火焰原子吸收光谱仪的工作参数

元素	波长/nm	狭缝/nm	灯电流/mA	乙炔-空气/Lh <sup>-1</sup>	PMT电压/V	燃烧头高度/mm
K	766.5	0.8	4.0	70	289	8
Na	589.0	0.8	3.0	70	251	6
Mg	285.2	1.2	1.5	70	232	6
Ca	422.7	1.2	3.0	70	288	6
Fe	248.3	0.2	4.0	70	440	6
Zn	213.9	0.5	2.0	70	409	6
Cu	324.8	1.2	2.0	70	508	6
Mn	279.5	0.2	5.0	70	329	6
Cr	357.0	0.5	4.0	70	236	6
Pb	283.3	1.2	2.0	70	288	8
Cd	222.8	1.2	2.0	70	277	6

## 2.3 标准曲线制作

在特定的原子吸收光谱条件下,根据预实验结果和各元素的性质及2种藻粉中各元素的含量来确定不同元素的标准溶液系列质量浓度.结果表明,不同的元素具有不同的系列质量浓度,得出相关性较好的线性回归方程(表2).

表2 标准溶液质量浓度、线性回归方程及相关系数

元素	标准溶液质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )	线性回归方程	相关系数
K	0,0.10,0.30,0.50,1.00,2.00	$y=0.1646x-0.0123$	0.9985
Na	0,0.04,0.10,0.20,0.30,0.40	$y=1.2208x-0.0008$	0.9995
Mg	0,0.04,0.10,0.20,0.30,0.40	$y=1.7156x+0.0410$	0.9957
Ca	0,0.20,0.50,1.00,1.50,2.00	$y=0.0643x+0.0068$	0.9983
Zn	0,0.20,0.50,1.00,1.50,2.00	$y=0.4456x+0.0140$	0.9995
Cu	0,0.20,0.50,1.00,1.50,2.00	$y=0.1401x-0.0011$	0.9995
Fe	0,0.20,0.50,1.00,1.50,2.00	$y=0.0915x-0.0066$	0.9950
Mn	0,0.20,0.50,1.00,1.50,2.00	$y=0.2352x+0.0040$	0.9998
Cd	0,0.04,0.10,0.30,0.40,1.00	$y=0.1658x+0.0013$	0.9999
Cr	0,0.50,1.00,2.00,5.00,10.00	$y=0.0142x+0.0002$	0.9995
Pb	0,0.10,0.30,0.50,1.00,2.00	$y=0.0967x-0.0064$	0.9988

## 2.4 样品分析结果

### 2.4.1 金属元素含量分析

每种元素检测时,待测样品溶液均连续3次进样.结果显示,2种食用藻类中K、Na、Mg、Ca和Fe元素的含量均较高,螺旋藻中K、Na、Ca和Fe元素的含量高于葛仙米中的含量,但葛仙米中Mn元素的含量要高于螺旋藻中的含量,Mg、Zn和Cu含量二者接近.重金属Cr、Pb和Cd元素的含量二者接近且较低.本实验精密度和重复性均较好,相对标准偏差(RSD)为1.20%~6.97%和1.30%~5.73%(表3).

表3 样品的分析结果( $n=6$ )

元素种类	螺旋藻 /(mg·kg <sup>-1</sup> )	国家标准 /(mg·kg <sup>-1</sup> )	RSD/%	葛仙米 /(mg·kg <sup>-1</sup> )	国家标准 /(mg·kg <sup>-1</sup> )	RSD/%
K	29 790.401	—	1.20	6 665.654	—	5.23
Na	32 120.604	—	6.97	2752.376	—	1.30
Mg	4371.551	—	2.40	5890.553	—	3.03
Ca	61 905.132	—	1.47	55 878.694	—	1.80
Zn	37.271	—	3.70	46.707	—	2.37
Fe	905.811	—	3.27	446.903	—	5.73
Cu	11.271	—	4.93	33.564	—	2.83
Mn	18.858	—	2.73	245.026	—	2.20
Cr	0.026	≤0.5	5.40	0.079	≤0.5	3.60
Pb	0.172	≤1.0	5.30	0.172	≤1.0	3.10
Cd	0.088	≤0.5	6.10	0.054	≤0.5	3.20

注:表中“—”表示在食品中无限量标准.

### 2.4.2 回收率实验

回收率实验结果显示,相对标准偏差(RSD)在 96.12% ~ 110.00%与 91.80%~104.00%之间,表明火焰原子吸收光谱法检测食品中金属元素具有良好的准确性.

表 4 回收率实验( $n=6$ )

元素 种类	螺旋藻					葛仙米				
	样品质量浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加标量 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加标后质量浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回收率 /%	RSD /%	样品质量浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加标量 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加标后质量浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回收率 /%	RSD /%
K	0.612	0.50	1.100	97.63	3.736	0.112	0.50	0.605	98.59	1.139
Na	0.632	1.00	1.626	99.38	0.671	0.548	1.00	1.534	98.59	0.952
Mg	0.065	0.10	0.162	96.90	1.187	0.119	0.10	0.214	91.80	6.989
Ca	1.192	2.00	3.193	100.06	0.589	1.171	2.00	3.135	98.20	3.161
Zn	0.883	1.50	2.375	99.43	0.915	0.989	2.00	2.947	97.90	2.704
Fe	1.816	2.00	3.738	96.12	5.710	0.884	2.00	2.830	97.28	4.058
Cu	0.235	0.50	0.736	100.18	0.888	0.367	0.50	0.863	99.14	3.361
Mn	0.488	0.50	0.976	97.48	1.398	0.514	0.50	1.007	98.66	1.075
Cr	0.001	0.01	0.012	104.00	1.923	0.006	0.01	0.016	101.0	1.715
Pb	0.007	0.01	0.018	110.0	7.925	0.007	0.01	0.017	103.0	4.449
Cd	0.008	0.01	0.018	99.0	4.040	0.003	0.01	0.013	104.0	3.846

## 3 讨 论

矿物质是构成人体组织(如骨、齿、发、肌肉、血等)的主要无机物质,也是调节人体生理功能(如体液酸碱度及渗透压)的重要元素.因此,矿物质元素对人体的生长发育和代谢生理过程起着至关重要的作用.但有些重金属元素并非人体必需的营养元素,如 Cr、Pb、Cd.如果这些有毒重金属元素在食品中富集残留,人过量摄入可导致其造血系统、呼吸系统、神经系统、消化系统、组织器官等损伤<sup>[16-19]</sup>.因此,测定食用蓝藻中金属元素含量显得尤为重要.

黄晓兵等<sup>[20]</sup>利用原子吸收法测定了毛竹冬笋中 Na、Mg、K、Ca、Cu、Zn、Mn、Fe 中矿物质元素的含量,表明该方法可以有效测定食品中的金属元素.本研究用此方法对 2 种食用蓝藻中 11 种金属元素测定,结果表明,其 K、Na、Mg、Ca 的含量均较高,Zn、Fe、Cu、Mn 含量也相对较高,但 2 种蓝藻稍有差别.包国良等<sup>[5]</sup>研究了螺旋藻中的 K、Na、Mg、Ca、Fe、Zn、Mn、Cu、Cr、Se 等元素,表明螺旋藻对人体健康具有保健作用.本实验测得螺旋藻中 K、Na、Mg、Ca、Fe 等元素的含量远高于包国良等的检测结果,只有 Mn 元素的含量与其十分接近,重金属 Cr 远低于其检测结果.对比可知,本实验室培养生产的食用藻矿物质元素含量丰富,且重金属含量较低.本研究结果与孙建民<sup>[22]</sup>研究的 4 种食品禽蛋中 8 种生命元素结果相比,Zn 高出 2 倍左右,Ca 高出 100 倍之多,其他 6 种元素高 20 倍左右.也远高于夏建荣等<sup>[21]</sup>检测的球形念珠藻金属元素的质量浓度,这可能与不同蓝藻培养株系以及不同的实验室培养条件和方法有关.孙建民<sup>[22]</sup>研究发现,人血液中 K、Na、Ca、Fe、Mg、Zn、Mn、Cu 含量分别为 200.0、3 200、100.0、1.2、25.0、1.13、0.04、0.96  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .从我们的检测结果可见,螺旋藻和葛仙米可作为人体矿物质元素和微量元素缺乏症的补给品.查广才等<sup>[23]</sup>研究表明拟柱胞藻中含 23 种微量和稀有元素,其中 Cr、Pb 和 Cd 等重金属质量浓度较高,表明拟柱胞藻具有强的富集环境重金属能力.而本研究结果显示,螺旋藻和葛仙米中 Cr、Pb、Cd 含量均远低于国家标准(Cr 质量浓度  $\leq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,Pb 质量浓度  $\leq 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,Cd 质量浓度  $\leq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )<sup>[24]</sup>,表明我们所培养的 2 种蓝藻没有重金属富集和污染,食用安全.

本研究结果表明,在分析的范围内,各元素质量浓度与吸光值都有着良好的线性关系,含量测定 RSD 分别在 1.20% ~ 6.97% 和 1.30% ~ 5.73% 之间;回收率的相对标准偏差(RSD)在 96.12% ~ 110.00% 与 91.80% ~ 104.00% 之间.该结果说明,火焰原子吸收光谱法是测量金属元素含量的有效办法,该方法简单,容易操作,精确度较好.另外,我们的实验结果也为螺旋藻和葛仙米作为食用藻和保健品的安全性评价提供了理论和科学依据.

## 参 考 文 献

[1] 徐建红,辛晓芸,王爱业.螺旋藻的研究现状及进展[J].山西师范大学学报(自然科学学报),2003,17(3):57-63.

- [2] 孙洁,陆胜名,陶宁萍.螺旋藻的营养价值及保健功效[J].中国水产,2006(5):28-29.
- [3] 朱王飞.螺旋藻的开发及利用前景[J].河北畜牧兽医,2004(6):50-51.
- [4] 徐惠娟,徐桂花.螺旋藻的营养保健功效[J].农业科学研究,2005,26(1):89-92.
- [5] 包国良,王茵.螺旋藻中营养成分检测及其生物学活性研究[J].中国卫生检疫杂志,2012,22(5):1034-1036.
- [6] 王兴平,谢笔均,莫开菊,等.野生与室内培养的葛仙米营养成分比较分析研究[J].食品科学,2005,26(6):238-241.
- [7] 刘金龙.葛仙米营养成分研究[J].中草药,2000(11):862-863.
- [8] 莫开菊,谢笔均,王兴平,等.葛仙米多糖的提取、分离与纯化技术研究[J].食品科学,2004,25(10):103-108.
- [9] 陈德文,王兴平,潘思轶.葛仙米的研究现状及应用前景[J].食品科学,2003,24(11):153-156.
- [10] 谭学儒.葛仙米[J].中国食物与营养,1998(5):45.
- [11] 李莉,韩鸿印,马光明.野生葛仙米矿物元素富集讨论[J].湖北民族学院报(自然科学版),2007,25(4):448-445.
- [12] Yang Y, Park Y, Cassada D A, et al. In vitro and in vivo safety assessment of edible blue-green algae, *Nostoc commune* var. *sphaeroides* Kützing and *Spirulina plantensis* [J]. Food and Chemical Toxicology, 2011,(49):1560-1564.
- [13] Ku C S, Pham T X, Park Y, et al. Edible blue-green algae reduce the production of pro-inflammatory cytokines by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway in macrophages and splenocytes[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013,(1830):2981-2988.
- [14] Itoh T, Tsuchida A, Muramatsu Y, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory properties of nostocionone isolated from *Nostoc commune* Vauch and its derivatives against *Propionibacterium acnes* [J]. Anaerobe, 2014,(27):56-63.
- [15] 刘立云,王萍,冯美利,等.火焰原子吸收法测定海南槟榔叶片中金属元素的研究[J].光谱学与光谱分析,2008,28(12):2989-2992.
- [16] 曹珺,赵丽娇,钟儒刚.原子吸收光谱法测定食品中重金属含量的研究进展[J].食品科学,2012,33(7):304-309.
- [17] Rezende H C, Nascentes C C, Coelho N M. Cloud point extraction for determination of cadmium in soft drinks by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry [J]. Microchemical Journal, 2011, 97(2):118-121.
- [18] Davis A C, Wu P, Zhang X, et al. Determination of cadmium in biological sample [J]. Applied Spectroscopy Reviews,2006,41(1):35-37.
- [19] Slavica R S. Determination of chromium in *Mentha piperita* L. and soil by graphite furnace atomic absorption spectrometry after sequential extraction and microwave-assisted acid digestion to assess potential bioavailability[J]. Chemosphere,2010,78(4):451-456.
- [20] 黄晓兵,李积华,张文华,等.毛竹冬笋不同部位营养成分及活性成分分析[J].食品科技,2014,39(8):59-63.
- [21] 夏建荣,高坤山.球形念珠藻的生化组成分析[J].武汉植物学研究,2002,20(3):223-224.
- [22] 孙建民,于立青,孙汉文,等.4种食品禽蛋中8种生命元素的测定及营养分析[J].微量元素与健康研究,2003,20(3):26-28.
- [23] 查广才,杨冬娟,邹海鹰.拟柱胞藻的营养成分与培养[J].广东农业科学,2010(8):6-8.
- [24] 食品安全国家标准食品污染限量.GB 2762-2012 中国食品中重金属限量标准[S].北京:中国标准出版社,2012.

## Content determination of the Metal Elements in the Edible Algae *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides*

FANG Qian, MA Junguo, LI Xiaoyu

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** The dry powder from two kinds of edible cyanobacteria *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides* were first digested by using nitric acid and perchloric acid (4 : 1) mixed acid and then the contents of K, Na, Mg, Ca, Zn, Fe, Cu, Mn, Cr, Pb, Cd in *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides* were determined by using flame atomic absorption spectrometry. The results showed that the mineral element contents in the two kinds of cyanobacteria were abundant, for example, Ca content in *Spirulina* was as high as 61 905.132 mg kg<sup>-1</sup>. However, heavy metal element contents in *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides* were far below the national standard stipulated by the government of China, indicating that no enrichment of heavy metal or pollution occurs in them. Our results also suggest that *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides* can be excellent nutrition foods of natural rich calcium and can be used as an effective tonic of human who is in the deficiency of mineral elements and trace elements. This study may be helpful for evaluating of the edible and medicinal values of *Spirulina* and *Nostoc sphaeroides*.

**Keywords:** edible cyanobacteria; metallic elements; content