

利用超滤-原子吸收技术分析 3 种保健品中 钙铁锌的存在形态

陈安徽^{1,2}, 巫永华¹, 刘辉¹, 邢建超², 欧礼虎², 陈尚龙¹

(1. 徐州工程学院食品(生物)工程学院, 江苏徐州 221111)(2. 江苏开启牧业有限公司, 江苏徐州 221200)

摘要: 建立利用超滤-原子吸收技术分析保健品中金属元素形态的方法。通过 0.45 μm 微孔滤膜实现样品中可溶态和悬浮态的分离, 选择 D101 大孔树脂分离可溶态中有机态和无机态, 再利用超滤技术以膜的截留分子量分离有机态。使用微波消解-高分辨-连续光源火焰原子吸收光谱法测定不同形态的 Ca、Fe 和 Zn, 结果表明 3 种保健品中 Ca、Fe 和 Zn 含量都很丰富, 主要以可溶态形式存在, 可溶态中以有机态为主。锌铁钙口服溶液中有有机态 Ca 主要分布在分子量<300 ku 的分子中, 有机态 Fe 和 Zn 主要分布在分子量<8 ku 的分子中; 黄精酵素口服液中有有机态 Ca 和 Fe 主要分布在分子量<300 ku 的分子中, 有机态 Zn 主要分布在分子量<8 ku 的分子中; 固体酵素中有有机态 Ca、Fe 和 Zn 主要分布在分子量<300 ku 的分子中。该方法具有较高的实用价值, 为进一步研究保健品的功能, 特别是有益金属元素的生物有效性提供基础数据。

关键词: 超滤技术; 火焰原子吸收光谱法; 金属元素; 形态分析

文章编号: 1673-9078(2017)10-254-261

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.10.035

Speciation Analysis of Calcium, Iron, and Zinc in Three Kinds of Health-care Food by Ultrafiltration-Atomic Absorption Spectrometry

CHEN An-hui^{1,2}, WU Yong-hua¹, LIU Hui¹, XING Jian-chao², OU Li-hu², CHEN Shang-long¹

(1. College of Food (Biological) Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221111, China)

(2. Jiangsu Kaiqi Animal Husbandry Co., Ltd., Xuzhou 221200, China)

Abstract: A method was developed for the speciation analysis of metal elements in health-care food by ultrafiltration-atomic absorption spectrophotometry. The suspended and soluble metal elements in health-care food were obtained by 0.45 μm filtration membranes, and the inorganic and organic metal elements in soluble species were separated by D101 macroporous resin. Moreover, the organic-form metal elements were separated based on the molecular weight with ultrafiltration membranes. The content of calcium, iron and zinc in different species were determined by microwave digestion-high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry. The results showed that the three kinds of health-care food were all rich in calcium, iron, and zinc. Most of them were in soluble form, of which the organic forms were more than half. The organic calcium of oral liquid including calcium, iron and zinc was mainly distributed in the fraction with molecular weight< 300 ku, while the organic iron and zinc were mainly distributed in the fraction with molecular weight< 8 ku. Most of the organic-form calcium and iron of oral liquid including polygonatum and enzymes were distributed in the molecular weight<300 ku fraction, while the organic zinc was mainly distributed in the molecular weight < 8 ku. All the organic form of them in solid including enzyme were mainly distributed in the molecular weight <300 ku fraction. Therefore, the proposed method has favorable practical value. It provides much basic data for the further study on the functions of the health-care food, especially for the biological effectiveness research of beneficial metals.

Key words: ultrafiltration; flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS); metal elements; speciation analysis

收稿日期: 2016-12-18

基金项目: 江苏省前瞻性联合研究项目(BY2015024-04); 江苏省苏北科技专项(BN2015012、BN2106017); 国家星火计划项目(2013GA690417); 国家自然科学基金面上项目(31270577)

作者简介: 陈安徽(1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 应用微生物学

通讯作者: 陈尚龙(1982-), 男, 博士研究生, 实验师, 研究方向: 微量元素检测与形态分析

超滤技术是指在压力的推动下,迫使分子量小于超滤膜截留分子质量的溶质通过超滤膜,形成透过液,而分子量大于膜截留分子质量的物质被超滤膜截留,实现物料中各组分按分子量大小进行选择分离^[1],目前广泛应用在分离、纯化和浓缩中。梁新红等^[2]应用两步超滤法分离出甘薯 β -淀粉酶,Zhou等^[3]利用超滤技术分离纯化玉米蛋白的抗氧化活性肽,冯颖等^[4]利用超滤技术实现了无梗五加果多糖的纯化,原超等^[5]利用超滤技术分离出大枣功效成分,而将超滤技术应用到金属元素形态分析的文献尚未见报道。

Ca、Fe和Zn这3种金属元素参与人体多种生理活动,对人体健康具有重要的意义^[6-8]。长期以来,对保健品有效成分的研究偏重于有机成分,而忽视了金属元素的作用。近年来,随着对有益金属元素研究的深入,很多学者已经认识到保健品的功能不仅与有益金属元素含量有关,还与金属元素存在形态有关^[9,10]。金属元素存在的不同形态,决定了它们在生物体内的化学行为,表现出不同的生物效应^[11-14]。

本试验以锌铁钙口服溶液、黄精酵素口服液和固体酵素这3种保健品为研究对象,研究其中Ca、Fe和Zn的存在形态。实验利用0.45 μ m微孔滤膜实现悬浮态和可溶态的分离;利用大孔树脂处理可溶态溶液,实现无机态和有机态的分离;利用4种不同规格的超滤膜处理可溶态溶液,得到5种组分,分别为8ku透过液、30ku透过液、50ku透过液、300ku透过液和300ku截留液。采用微波消解作为样品的前处理方式,使用高分辨-连续光源火焰原子吸收光谱法(high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry, HR-CS FAAS)^[15-23]进行测定,为进一步研究保健品的功能,特别是有益金属元素的生物有效性提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

锌铁钙口服溶液,市售保健品;黄精酵素口服液和固体酵素,实验室研发样品。

浓硝酸、氯化钾、硝酸镧、30%过氧化氢(V/V)(均为优级纯),国药集团化学试剂有限公司;浓盐酸、氢氧化钠、无水乙醇、氯化钙、丙酮(均为分析纯),国药集团化学试剂有限公司;Ca、Fe和Zn标准溶液(100 mg/L)国家化学试剂质检中心;D101大孔树脂,陕西蓝深特种树脂有限公司;实验用水皆为超纯水(电阻率为18.2 M Ω ·cm);玻璃器皿均用5%(V/V)的硝酸溶液浸泡24 h以上。

1.2 仪器与设备

ContrAA 700 高分辨-连续光源原子吸收光谱仪(high resolution-continuum source atomic absorption spectrometry, HR-CS AAS),德国Analytik Jena公司;LABSCALE超滤系统(配有截留分子质量分别为8ku、30ku、50ku和300ku的改良聚醚砜BIOMAX膜,有效膜面积为50 cm²),美国MILLIPORE公司;CascadaTM实验室超纯水系统,美国Pall公司;XT-9900智能微波消解仪、XT-9800多用预处理加热仪,上海新拓微波溶样测试技术有限公司;R206旋转蒸发器,上海申生科技有限公司;EL204电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;移液器,德国Eppendorf公司;220V-AC电子电炉(0~2000 W),上海树立仪器仪表有限公司。

1.3 方法

1.3.1 仪器工作条件

根据文献^[24]报道,选定HR-CS AAS工作条件见表1。

表1 HR-CS AAS工作条件

Table 1 Working conditions of HR-CS AAS

元素	波长/nm	火焰类型	燃烧器类型/mm	乙炔流量/(L/h)	空气流量/(L/h)	燃烧器高度/mm
Ca	422.6728	C ₂ H ₂ -Air	100	70	470	6
Fe	248.3270	C ₂ H ₂ -Air	100	80	470	5
Zn	213.8570	C ₂ H ₂ -Air	100	90	470	6

1.3.2 标准工作曲线的配制

用0.5% HNO₃(V/V)溶液将Ca标准溶液进行逐级稀释,配制成0~10 mg/L的标准系列溶液,并向其中添加KCl和La(NO₃)₃溶液,使其都含有质量分数1% KCl和质量分数0.5% La(NO₃)₃。

用0.5% HNO₃(V/V)溶液将Fe和Zn标准溶液进行

逐级稀释,分别配制成0~5和0~4 mg/L的标准系列溶液,并向其中添加KCl溶液,使其都含有质量分数0.1% KCl。

1.3.3 保健品中金属元素总量的测定

准确移取一定体积或称取一定质量的保健品(5.00 mL 锌铁钙口服溶液、5.00 mL 黄精酵素口服

液、0.5 g 左右(精确至 0.1 mg 固体酵素)置于干燥的聚四氟乙烯微波消解罐中,加入 5 mL 浓 HNO₃ 和 2 mL 30% H₂O₂(V/V), 在多用预处理加热仪中敞口消解 1 h 左右, 再向其中加入 2 mL 30% H₂O₂(V/V), 按表 2 中微波消解条件进行密闭消解。冷却后, 将其转移至 50 mL 小烧杯中, 放到电子电炉上, 调节电炉功率至 1000 W, 在通风橱内加热至近干, 用 0.5% HNO₃(V/V)溶液多次冲洗小烧杯中的样液, 并将冲洗液转移至 25 mL 容量瓶中, 用 0.5% HNO₃(V/V)溶液定容至刻度, 摇匀备用, 同时以同样方法做空白对照。根据所测金属元素浓度的高低, 用 0.5% HNO₃(V/V)溶液对其进行适当倍数的稀释, 然后使用 HR-CS FAAS 进行测定(根据 1.3.2 节向待测样品溶液中添加一定量的 KCl 和 La(NO₃)₃ 溶液)。

表 2 微波消解条件

Table 2 Conditions of microwave digestion

步骤	压力/MPa	时间/s	微波功率/W
1	0.2	60	500
2	0.5	60	1000
3	1.0	120	1000
4	1.5	120	1000
5	2.0	60	1000

1.3.4 超滤操作条件的选择

超滤膜规格对分离效果的影响: 准确移取 150 mL 0.2 mg/L Zn²⁺溶液置于超滤仪(按规范清洗)样品槽中, 分别安装不同规格超滤膜(8 ku、30 ku、50 ku 和 300 ku), 开启超滤仪, 按 10 mL/管的方式收集透过液, 当样品槽中溶液体积<20 mL 时, 向样品槽中加入 100 mL 超纯水, 重复操作, 直至收集到 60 管(600 mL)透过液, 使用 HR-CS FAAS 测定各管的吸光度。

金属离子初始浓度对分离效果的影响: 分别准确移取 150 mL 不同质量浓度金属离子溶液(Ca²⁺: 5、10、30、50 mg/L; Fe²⁺: 0.5、1、3、5 mg/L; Zn²⁺: 0.2、0.5、1、2 mg/L)置于超滤仪(安装 8 ku 超滤膜, 按规范清洗)样品槽中, 开启超滤仪, 按 10 mL/管的方式收集透过液, 当样品槽中溶液体积<20 mL 时, 向样品槽中加入 100 mL 超纯水, 重复操作, 直至收集到 50 管(500 mL)透过液, 使用 HR-CS FAAS 测定各管的吸光度。

1.3.5 可溶态与悬浮态的分离和测定

准确移取一定体积或称取一定质量的保健品(2.00 mL 复方锌铁钙口服溶液、50.0 mL 黄精酵素口服液、10 g 左右(精确至 0.1 mg)固体酵素)置于 250 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解后稀释至刻度, 再用 0.45 μm 微孔滤膜抽滤, 得可溶态溶液。按 1.3.3 节方法进

行消解和测定, 测定结果为可溶态金属元素含量。

悬浮态金属元素含量=金属元素总量-可溶态金属元素含量

1.3.6 可溶态中有机态与无机态的分离和测定

根据相关文献^[24,25]报道, 试验选择 D101 大孔树脂分离可溶态中有机态和无机态。分别用 5% HCl(V/V)、50 g/L NaOH 和无水乙醇洗涤 D101 大孔树脂, 洗涤后将大孔树脂保存在无水乙醇中, 使用前用 1% HNO₃(V/V)以 2 mL/min 的流速冲洗 1 h。准确移取 10.00 mL 可溶态溶液, 过 D101 大孔吸附树脂(去离子水冲至中性), 用 1% HNO₃(V/V)以 2 mL/min 的流速洗涤树脂, 收集 120 min 内的洗出液, 加热浓缩至 100 mL, 使用 HR-CS FAAS 进行测定, 测定结果为可溶态中无机态金属元素含量。

可溶态中有机态金属元素含量=可溶态金属元素含量-可溶态中无机态金属元素含量

用丙酮以 3 mL/min 的流速洗涤树脂, 洗涤 60 min, 可将有机态金属元素从树脂中洗脱下来。

1.3.7 利用超滤技术以膜的截留分子量对可溶态进行分离和测定

准确移取 150 mL 可溶态溶液置于超滤仪(安装 8 ku 超滤膜, 按规范清洗)样品槽中, 开启超滤仪, 用 500 mL 容量瓶收集透过液, 当样品槽中溶液体积<20 mL 时, 向样品槽中加入 100 mL 超纯水, 重复操作, 直至收集到 500 mL 透过液, 即为 8 ku 透过液(此溶液包括无机态和<8 ku 的有机态, 按 1.3.3 节方法进行消解和测定, 测定结果为无机态和<8 ku 的有机态金属元素含量之和); 然后停止仪器, 更换 30 ku 超滤膜, 重复上述操作, 所收集的 500 mL 透过液, 即为 30 ku 透过液(此溶液为 8~30 ku 的有机态, 按 1.3.3 节方法进行消解和测定, 测定结果为 8~30 ku 的有机态金属元素含量); 依次更换 50 ku 和 300 ku 超滤膜, 收集的透过液分别为 50 ku 透过液(此溶液为 30~50 ku 的有机态)和 300 ku 透过液(此溶液为 50~300 ku 的有机态), 按 1.3.3 节方法进行消解和测定, 测定结果分别为 30~50 ku 和 50~300 ku 的有机态金属元素含量; 最后样品槽中剩余的溶液为 300 ku 截留液。

<8 ku 的有机态金属元素含量=8 ku 透过液中金属元素含量-可溶态中无机态金属元素含量

≥300 ku 的有机态金属元素含量=可溶态中有机态金属元素含量-<300 ku 的有机态金属元素含量之和

1.3.8 数据分析

根据公式(1)计算锌铁钙口服溶液(或黄精酵素口服液)中各金属元素的含量, 公式②计算固体酵素中各金属元素的含量:

$$c = \rho n V_1 / V_2 \quad (1)$$

$$\omega = \rho n V_1 / m \quad (2)$$

式中： c 为锌铁钙口服溶液（或黄精酵素口服液）中各金属元素的含量/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$ ； ω 为固体酵素中各金属元素的含量/ $(\mu\text{g}/\text{g})$ ； ρ 为待测样品溶液中各金属元素的质量浓度/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$ ； n 为样品稀释的倍数； V_1 为消解结束后样品定容的体积/ mL ； V_2 为准确移取样品的体积/ mL ； m 为准确称取样品的质量/ g 。

所得数据均为平行测定3次的平均值，同时计算相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 超滤膜规格对分离效果的影响

试验以 0.2 mg/L Zn^{2+} 溶液为研究对象，选择 8 ku、30 ku、50 ku 和 300 ku 这 4 种规格的超滤膜按 1.3.4 节方法进行操作，测定其吸光度，如图 1 所示。

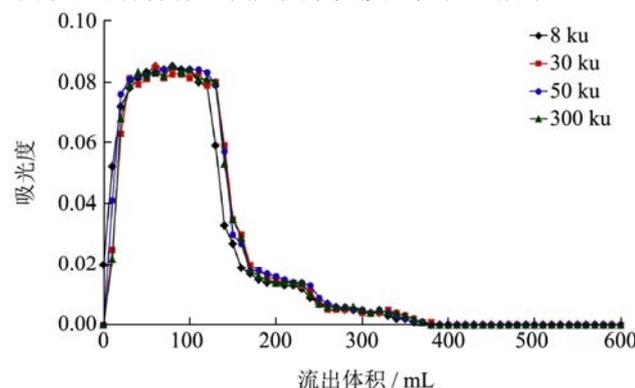


图1 超滤膜规格对 Zn^{2+} 分离效果的影响

Fig.1 Effect of the ultrafiltration membrane specifications on the separation effect of Zn^{2+}

由图 1 可知，不同规格超滤膜对 Zn^{2+} 分离效果的影响较小，吸光度变化趋势几乎相同。试验刚开始，透过液的吸光度迅速上升，到第 3 管（30 mL）时，其吸光度几乎达到最大值，并且保持平稳趋势；到第 14 管（140 mL）时，透过液的吸光度迅速下降，这是由于此时向样品槽中添加 100 mL 超纯水，使样品槽中 Zn^{2+} 质量浓度迅速下降；重复操作，到第 30 管（300 mL）时，透过液中 Zn^{2+} 质量浓度都已低于 5%（初始浓度），到第 39 管（390 mL）时，透过液中 Zn^{2+} 质量浓度都已达到 0。试验所选择的这 4 种规格超滤膜（8 ku、30 ku、50 ku 和 300 ku）的截留分子量远大于无机态 Zn^{2+} 的分子量，则无机态 Zn^{2+} 可以顺利地通过这些超滤膜。因此，分子量低于超滤膜截留分子质量的物质都可以在一定的时间内通过超滤膜。

2.2 金属离子初始浓度对分离效果的影响

试验以 5、10、30、50 mg/L Ca^{2+} 溶液为研究对象，选择 8 ku 的超滤膜按 1.3.4 节方法进行操作，测定其吸光度，如图 2 所示。

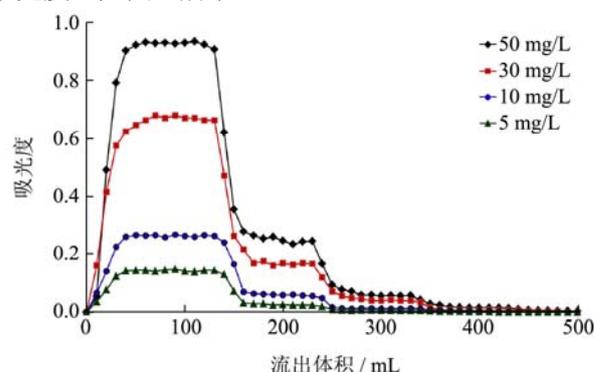


图2 初始浓度对 Ca^{2+} 分离效果的影响

Fig.2 Effect of the initial concentration on the separation effect of Ca^{2+}

由图 2 可知，不同初始浓度对 Ca^{2+} 分离效果的影响较大。5 mg/L Ca^{2+} 溶液到第 44 管（440 mL）时，透过液中 Ca^{2+} 质量浓度达到 0；10 mg/L Ca^{2+} 溶液到第 46 管（460 mL）时，透过液中 Ca^{2+} 质量浓度达到 0；30 mg/L Ca^{2+} 溶液到第 50 管（500 mL）时，透过液中 Ca^{2+} 质量浓度低于 0.2%（初始浓度）；50 mg/L Ca^{2+} 溶液到第 50 管（500 mL）时，透过液中 Ca^{2+} 质量浓度低于 0.5%（初始浓度）。因此， Ca^{2+} 溶液初始质量浓度低于 50 mg/L 时，按 1.3.4 节方法进行操作收集 500 mL 透过液，可以使 99.5% 以上的 Ca^{2+} 通过超滤膜（8 ku），从而实现 Ca^{2+} 的分离。

试验以 0.5、1、3、5 mg/L Fe^{2+} 溶液为研究对象，选择 8 ku 的超滤膜按 1.3.4 节方法进行操作，测定其吸光度，如图 3 所示。

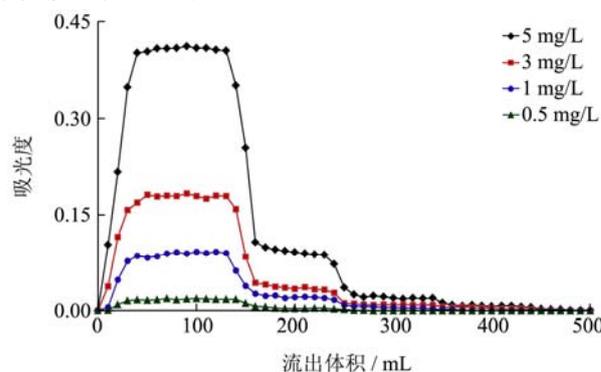


图3 初始浓度对 Fe^{2+} 分离效果的影响

Fig.3 Effect of initial concentration on the separation effect of Fe^{2+}

试验以 0.2、0.5、1、2 mg/L Zn^{2+} 溶液为研究对象，选择 8 ku 的超滤膜按 1.3.4 节方法进行操作，测定其吸光度，如图 4 所示。

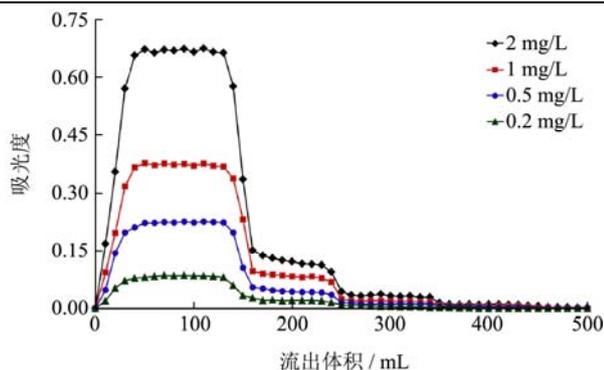


图4 初始浓度对Zn²⁺分离效果的影响

Fig.4 Effect of initial concentration on the separation effect of Zn²⁺

同理,由图3可知,Fe²⁺溶液初始质量浓度低于5 mg/L时,按1.3.4节方法进行操作收集500 mL透过液,可以使99.8%以上的Fe²⁺通过超滤膜(8 ku),从而实现Fe²⁺的分离;由图4可知,Zn²⁺溶液初始质量浓度低于2 mg/L时,按1.3.4节方法进行操作收集500 mL透过液,可以使99.7%以上的Zn²⁺通过超滤膜(8 ku),从而实现Fe²⁺的分离。

2.3 标准工作曲线的绘制

按表1中工作条件,使用HR-CS FAAS顺序测定各金属元素的标准系列溶液。以质量浓度(c)为横坐标、吸光度(A)为纵坐标,经ASpect CS软件绘制标准工作曲线(非线性),所得各金属元素的回归方程、线

性范围、相关系数和特征浓度见表3。

由表3可知,在一定浓度范围内,各金属元素的浓度与吸光度呈现良好的线性关系(相关系数均大于0.999)。

2.4 3种保健品中金属元素的形态分析

按表1中工作条件,使用HR-CS FAAS顺序测定空白溶液和样品溶液,根据各金属元素的回归方程计算出各形态中各金属元素的含量,计算结果见表4~6。

由表4可知,锌铁钙口服溶液中Ca、Fe和Zn含量非常丰富,分别为4571.2±177.3 μg/mL、581.41±9.83 μg/mL、218.17±5.33 μg/mL,主要以可溶态形式存在。可溶态中以有机态为主,Ca、Fe和Zn的有机态分别达到总量的92.31%、90.24%和86.36%,这说明锌铁钙口服溶液中含有丰富的有机态Ca、Fe和Zn。有机态的Ca主要分布在分子量<300 ku的分子中,达到总量的90.17%、有机态的97.68%,以分子量<8 ku的有机态为主,分子量8~300 ku的有机态分布均匀;有机态的Fe主要分布在分子量<8 ku的分子中,达到总量的81.63%、有机态的90.66%;有机态的Zn主要分布在分子量<8 ku的分子中,达到总量的83.88%、有机态的97.13%;这说明锌铁钙口服溶液中有机态的Ca主要分布在分子量<300 ku的分子中,有机态的Fe和Zn主要分布在分子量<8 ku的分子中。

表3 回归方程、相关系数和特征浓度

Table 3 Regression equations, correlation coefficients and characteristic concentrations

元素	回归方程	线性范围/(mg/L)	相关系数	特征质量浓度/(mg/L)
Ca	$A=(0.0029912+0.0472551 \times c)/(1+0.0206522 \times c)$	0~10	0.9995	0.089
Fe	$A=(-0.0013846+0.0256019 \times c)/(1+0.0194308 \times c)$	0~5	0.9992	0.181
Zn	$A=(-0.0018477+0.1311892 \times c)/(1+0.1288435 \times c)$	0~4	0.9991	0.035

表4 锌铁钙口服溶液中Ca、Fe和Zn元素各形态含量

Table 4 The content of various species Ca, Fe and Zn in the oral liquid including calcium, iron and zinc

形态	Ca		Fe		Zn	
	质量浓度/(μg/mL)	分布/%	质量浓度/(μg/mL)	分布/%	质量浓度/(μg/mL)	分布/%
总量	4571.2±177.3	100.00±3.88	581.41±9.83	100.00±1.69	218.17±5.33	100.00±2.44
可溶态	4457.7±97.8	97.52±2.14	556.83±10.42	95.77±1.79	206.83±3.47	94.80±1.59
悬浮态	113.5	2.48	24.58	4.23	11.34	5.2
无机态	238.1±12.3	5.21±0.27	32.17±0.53	5.53±0.09	18.42±0.51	8.44±0.23
有机态	4219.6	92.31	524.66	90.24	188.41	86.36
<8 ku的有机态	2078.5	45.47	474.62	81.63	183.01	83.88
8~30 ku的有机态	723.9±15.6	15.84±0.34	20.81±0.52	3.58±0.09	3.32±0.22	1.52±0.10
30~50 ku的有机态	659.6±11.5	14.43±0.25	15.63±0.43	2.69±0.07	0.81±0.12	0.37±0.06
50~300 ku的有机态	659.6±15.3	14.43±0.33	10.48±0.33	1.80±0.06	0.81±0.12	0.37±0.06
≥300 ku的有机态	98.0	2.14	3.12	0.54	0.46	0.21

表5 黄精酵素口服液中 Ca、Fe 和 Zn 元素各形态含量

Table 5 The content of various species Ca, Fe and Zn in the oral liquid including polygonatum and enzymes

形态	Ca		Fe		Zn	
	质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)	分布/%	质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)	分布/%	质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)	分布/%
总量	318.80 \pm 5.38	100.00 \pm 1.69	17.93 \pm 0.28	100.00 \pm 1.56	3.496 \pm 0.061	100.00 \pm 1.74
可溶态	242.16 \pm 3.97	75.95 \pm 1.25	12.12 \pm 0.17	67.59 \pm 0.95	3.073 \pm 0.052	87.90 \pm 1.49
悬浮态	76.66	24.05	5.81	32.41	0.423	12.10
无机态	69.64 \pm 1.89	21.84 \pm 0.59	3.20 \pm 0.05	17.85 \pm 0.28	1.136 \pm 0.029	32.49 \pm 0.83
有机态	172.50	54.11	8.92	49.74	1.937	55.41
<8 ku 的有机态	60.34	18.93	4.16	23.21	1.523	43.56
8~30 ku 的有机态	46.98 \pm 1.15	14.74 \pm 0.36	1.88 \pm 0.05	10.46 \pm 0.48	0.197 \pm 0.017	5.64 \pm 0.49
30~50 ku 的有机态	28.96 \pm 0.67	9.08 \pm 0.21	1.25 \pm 0.03	6.97 \pm 0.43	0.088 \pm 0.011	2.52 \pm 0.31
50~300 ku 的有机态	32.18 \pm 0.53	10.09 \pm 0.17	1.46 \pm 0.02	8.13 \pm 0.25	0.103 \pm 0.015	2.95 \pm 0.43
\geq 300 ku 的有机态	4.05	1.27	0.18	0.98	0.026	0.74

表6 固体酵素中 Ca、Fe 和 Zn 元素各形态含量

Table 6 The content of various species Ca, Fe and Zn in the solid including enzymes

形态	Ca		Fe		Zn	
	含量/($\mu\text{g/g}$)	分布/%	含量/($\mu\text{g/g}$)	分布/%	含量/($\mu\text{g/g}$)	分布/%
总量	810.11 \pm 13.51	100.00 \pm 1.67	43.94 \pm 0.91	100.00 \pm 2.07	2.485 \pm 0.047	100.00 \pm 1.89
可溶态	499.09 \pm 12.24	61.61 \pm 1.51	24.53 \pm 0.42	55.83 \pm 0.96	1.464 \pm 0.031	58.91 \pm 1.25
悬浮态	311.02	38.39	19.41	44.17	1.021	41.09
无机态	86.95 \pm 2.24	10.73 \pm 0.28	2.55 \pm 0.04	5.80 \pm 0.09	0.304 \pm 0.005	12.23 \pm 0.20
有机态	412.14	50.88	21.98	50.02	1.160	46.68
<8 ku 的有机态	79.71	9.84	4.74	10.79	0.736	29.61
8~30 ku 的有机态	92.34 \pm 2.07	11.40 \pm 0.26	5.21 \pm 0.09	11.85 \pm 0.20	0.162 \pm 0.005	6.54 \pm 0.20
30~50 ku 的有机态	108.10 \pm 3.22	13.34 \pm 0.40	6.25 \pm 0.16	14.22 \pm 0.36	0.130 \pm 0.004	5.23 \pm 0.16
50~300 ku 的有机态	112.61 \pm 2.76	13.90 \pm 0.34	4.69 \pm 0.11	10.67 \pm 0.25	0.097 \pm 0.003	3.92 \pm 0.12
\geq 300 ku 的有机态	19.39	2.39	1.09	2.49	0.034	1.37

由表5可知,黄精酵素口服液中 Ca、Fe 和 Zn 含量丰富,分别为 318.80 \pm 5.38 $\mu\text{g/mL}$ 、17.93 \pm 0.28 $\mu\text{g/mL}$ 和 3.496 \pm 0.061 $\mu\text{g/mL}$,多以可溶态形式存在。可溶态中以有机态为主,Ca、Fe 和 Zn 的有机态分别达到总量的 54.11%、49.74%和 55.41%,这说明黄精酵素口服液中含有丰富的有机态 Ca、Fe 和 Zn。有机态的 Ca 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,达到总量的 52.84%、有机态的 97.65%,以分子量<8 ku 的有机态为主;有机态的 Fe 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,达到总量的 48.77%、有机态的 98.05%,以分子量<8 ku 的有机态为主;有机态的 Zn 主要分布在分子量<8 ku 的分子中,达到总量的 43.56%、有机态的 78.61%;这说明黄精酵素口服液中有有机态的 Ca 和 Fe 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,有机态的 Zn 主要分布在分子量<8 ku 的分子中。

由表6可知,固体酵素中 Ca、Fe 和 Zn 含量丰富,分别为 810.11 \pm 13.51 $\mu\text{g/g}$ 、43.94 \pm 0.91 $\mu\text{g/g}$ 和 2.485 \pm 0.047 $\mu\text{g/g}$,多以可溶态形式存在。可溶态中以有机态为主,Ca、Fe 和 Zn 的有机态分别达到总量的 50.88%、50.02%和 46.68%,这说明黄精酵素口服液中含有丰富的有机态 Ca、Fe 和 Zn。有机态的 Ca 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,达到总量的 48.48%、有机态的 95.28%,分布均匀;有机态的 Fe 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,达到总量的 48.93%、有机态的 97.82%,分布均匀;有机态的 Zn 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,达到总量的 45.30%、有机态的 97.04%,以分子量<8 ku 的有机态为主;这说明固体酵素中有有机态的 Ca、Fe 和 Zn 主要分布在分子量<300 ku 的分子中,其中 Ca 和 Fe 分布均匀,Zn 以分子量<8 ku 的有机态为主。

3 结论

3种保健品中Ca、Fe和Zn含量都很丰富,主要以可溶态形式存在,可溶态中以有机态为主。锌铁钙口服溶液中Ca、Fe和Zn含量分别为 $4571.2\pm 177.3\ \mu\text{g/mL}$ 、 $581.41\pm 9.83\ \mu\text{g/mL}$ 和 $218.17\pm 5.33\ \mu\text{g/mL}$,有机态的Ca主要分布在分子量 $<300\ \text{ku}$ 的分子中,有机态的Fe和Zn主要分布在分子量 $<8\ \text{ku}$ 的分子中;黄精酵素口服液中Ca、Fe和Zn含量分别为 $318.80\pm 5.38\ \mu\text{g/mL}$ 、 $17.93\pm 0.28\ \mu\text{g/mL}$ 和 $3.496\pm 0.061\ \mu\text{g/mL}$,有机态的Ca和Fe主要分布在分子量 $<300\ \text{ku}$ 的分子中,有机态的Zn主要分布在分子量 $<8\ \text{ku}$ 的分子中;固体酵素中Ca、Fe和Zn含量分别为 $810.11\pm 13.51\ \mu\text{g/g}$ 、 $43.94\pm 0.91\ \mu\text{g/g}$ 和 $2.485\pm 0.047\ \mu\text{g/g}$,有机态的Ca、Fe和Zn主要分布在分子量 $<300\ \text{ku}$ 的分子中,其中Ca和Fe分布均匀,Zn以分子量 $<8\ \text{ku}$ 的有机态为主。

参考文献

- [1] Li Y, Butler N, Zydney A L. Size-based separation of supercoiled plasmid DNA using ultrafiltration [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 475: 195-201
- [2] 梁新红,孙俊良,马汉军,等.两步超滤法分离甘薯 β -淀粉酶[J].*食品科学*,2015,36(21):180-184
LIANG Xin-hong, SUN Jun-liang, MA Han-jun, et al. Separation of β -amylase from sweet potato using two-stage ultrafiltration technique [J]. *Food Science*, 2015, 36(21): 180-184
- [3] Zhou K, Sun S, Canning C. Production and functional characterization of antioxidative hydrolysates from corn protein via enzymatic hydrolysis and ultrafiltration [J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1192-1197
- [4] 冯颖,于磊,孟宪军,等.响应面法优化超滤提纯无梗五加果多糖工艺[J].*食品科学*,2013,34(2):67-71
FENG Ying, YU Lei, MENG Xian-jun, et al. Response surface methodology for optimization of ultrafiltration conditions for fractionation of polysaccharides from *Acanthopanax sessiliflorus* fruits [J]. *Food Science*, 2013, 34(2): 67-71
- [5] 原超,范三红,林勤保,等.超滤、纳滤技术分离大枣功效成分的研究[J].*食品科技*,2012,2:102-107
YUAN Chao, FAN San-hong, LIN Qin-bao, et al. Separation of function component of jujube dates by ultra filtration and nano filtration membranes [J]. *Food Science and Technology*, 2012, 2: 102-107
- [6] 杨彦丽,林立,周谔非,等.微波消解 ICP-AES 法测定婴幼儿配方乳粉中 9 种微量元素[J].*现代食品科技*,2010,2(26): 209-211
YANG Yan-li, LIN Li, ZHOU An-fei, et al. Determination of 9 kinds of trace elements in infant formula milk powder by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with microwave digestion sample preparation [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2010, 2(26): 209-211
- [7] Tassia S S, Francisco C R, Cezar A B, et al. Feasibility of dispersive liquid-liquid microextraction for extraction and preconcentration of Cu and Fe in red and white wine and determination by flame atomic absorption spectrometry [J]. *Spectrochimica Acta Part B*, 2015, 105(3): 136-140
- [8] 高淑云.火焰原子吸收法测定牛蒡中元素含量[J].*徐州工程学院学报(社会科学版)*,2007,22(6):32-35
GAO Shu-yun. The determination of element content in burdock by flame atomic absorption spectrophotometry [J]. *Journal of Xuzhou Institute of Technology*, 2007, 6(22): 32-35
- [9] 李书兰,骆雪芳,马丹,等.中药中微量元素形态分析方法的研究概况[J].*药物进展*,2006,30(2):49-56
LI Shu-lan, LUO Xue-fang, MA Dan, et al. Overview of speciation analysis of trace element in traditional Chinese medicine [J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2006, 30(2): 49-56
- [10] Liu F, Pei F, Mariga A M, et al. Separation and speciation analysis of zinc from *Flammulina velutipes* [J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2015, 60(4): 630-635
- [11] Wu Q, Zhou H, Tam N F Y, et al. Contamination, toxicity and speciation of heavy metals in an industrialized urban river: implications for the dispersal of heavy metals [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 104(1-2): 153-161
- [12] Gu Y G, Lin Q, Yu Z L, et al. Speciation and risk of heavy metals in sediments and human health implications of heavy metals in edible nekton in Beibu Gulf, China: a case study of Qinzhou Bay [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 101(2): 852-859
- [13] Zhang J B, Yang B, Chen T, et al. Metal speciation and pollution assessment of Cd and Pb in intertidal sediments of Donghai island, China [J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2016, 6: 37-48
- [14] 尹涓.元素形态分析方法在食品科学中的应用[J].*食品科学技术学报*,2015,33(3):56-58
YIN Wei. Elemental speciation analysis methods and its application in food science [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 33(3): 56-58

- [15] Peronico V C D, Jorge L R J. Ultrasound-assisted extraction for the determination of Cu, Mn, Ca and Mg in alternative oilseed crops using flame atomic absorption spectrometry [J]. Food Chemistry, 2016, 196: 1287-1292
- [16] Ozbek N, Baysal A. A new approach for the determination of sulphur in food samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometer [J]. Food Chemistry, 2015, 168(168): 460-463
- [17] Paz-Rodríguez B, Aboal-Somoza M, Bermejo-Barrera P. Application of high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry (HR-CS FAAS): determination of trace elements in tea and tisanes [J]. Food Chemistry, 2015, 170: 492-500
- [18] Santos J, Oliva-Teles M T, Delerue-Matos C, et al. Multi-elemental analysis of ready-to-eat "baby leaf" vegetables using microwave digestion and high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry [J]. Food Chemistry, 2014, 151(151): 311-6
- [19] Baysal A, Akman S. A practical method for the determination of sulphur in coal samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry [J]. Talanta, 2011, 85(5): 2662-2665
- [20] Ozbek N, Akman S. Method development for the determination of fluorine in toothpaste via molecular absorption of aluminum mono fluoride using a high-resolution continuum source nitrous oxide/acetylene flame atomic absorption spectrophotometer [J]. Talanta, 2012, 94(30): 246-250
- [21] Brandao G C, De Jesus R M, Da Silva E G P, et al. Use of slurry sampling for the direct determination of zinc in yogurt by high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry [J]. Talanta, 2010, 81(4): 1357-1359
- [22] Oliveira S R, Gomes Neto J A, NÓBrega J A, et al. Determination of macro-and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies [J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2010, 65(4): 316-320
- [23] 张建萍,陈尚龙,刘恩岐,等.微波消解-HR-CS AAS 法测定几种调味品中的微量元素[J].现代食品科技,2013,29(6): 1424-1427
ZHANG Jian-ping, CHEN Shang-long, LIU En-qi, et al. Determination of trace elements in some seasonings by microwave digestion-high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrophotometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1424-1427
- [24] 陈安徽,陈尚龙,巫永华,等.黄精酵素口服液中钙、铁和锌的形态分析[J].现代食品科技,2016,32(1):1425-1427
CHEN An-hui, CHEN Shang-long, WU Yong-hua, et al. Speciation analysis of calcium, iron, and zinc in the oral liquid including polygonatum and enzymes [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(1): 1425-1427
- [25] 陈琛,苏珂,陈贵堂,等.灰树花中铁的存在形态分析[J].食品科学,2013,34(22):189-192
CHEN Chen, SU Ke, CHEN Gui-tang, et al. Speciation of Iron in *Grifola frondosa* [J]. Food Science, 2013, 34(22): 189-192