

采用电感耦合等离子体质谱仪测定

桑叶中不同形式钙的含量

黄智安^{1,2}, 余进², 罗欣¹, 陈彦和^{1,2}, 李强^{1,2}

(1.劲牌有限公司, 湖北黄石 435100;

2.中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北黄石 435100)

摘要: 使用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS), 对桑叶粉中总钙含量及不同形态的钙含量进行测定。结果显示, 样品中含钙量达到 24143.8 mg/kg。同时, 各形态钙的含量中, 水溶性钙、果胶酸钙以及碳酸钙占比 59.5%, 对于人体而言, 可这 3 种形态钙是能被人体吸收的钙。由此可见, 桑叶粉不仅钙含量高, 而且其中钙的存在形态有利于人体的消化吸收。

关键词: 电感耦合等离子体质谱仪; 桑叶; 钙

桑叶, 又名铁扇子、神仙叶等, 主要分布在亚热带、北温带、非洲热带和美洲等地区, 我国有近千万亩桑园, 其中在四川、广西及长江中下游地区分布较广^[1]。桑叶其性寒、味甘苦, 具有疏散风热、清肺润燥、清肝明目之功效。桑叶中含有丰富的营养物质, 如蛋白质、矿物质、维生素等, 以及多种生物活性成分, 具有降血糖、降血压、降低胆固醇、抗衰老、增强免疫力等功效^[2-3]。

另外据报道, 桑叶中钙含量极高, 可高达 2699mg/100g^[4], 远高于牛奶(110mg/100g)、豆制品(230mg/100g)、奶酪(410mg/100g)等食品^[5]。钙通常以水溶钙、果胶钙、磷酸钙、草酸钙及残余的硅酸钙等形态存在于植物中, 不同形态的钙功能有所不同。例如细胞壁中钙的形态主要为果胶钙用以维持形态, 植物液泡内钙的形态主要为沉淀的草酸钙, 可避免有机酸累积产生的毒害^[6]。

为了深入了解桑叶中钙存在的形态, 采用不同浸提剂逐级提取的方法分析测定桑叶中不同形态的钙含量。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 iCAP RQ 型电感耦合等离子体质谱仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; PRO 型微波消解仪, 奥地利安东帕有限公司; ELGA 纯水机, 英国威立雅公司; SQP 分析天平, 德国赛多利斯公司; 超声提取器, 上海科导; 3k15 离心机, SIGMA。

1.1.2 试剂 盐酸，硝酸，冰乙酸；一级水，电阻率 $\geq 18.2 \text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ ；钙单元素标准物质；锂、铈、锆、钇、铟、铪、铀单元素标准溶液。

注：除非另有说明，本方法所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

1.2 标准溶液的制备

分别精密量取钙单元素标准溶液，用（5+95）硝酸溶液稀释制成每 1mL 含钙 $0\mu\text{g}$ 、 $0.400\mu\text{g}$ 、 $2.00\mu\text{g}$ 、 $4.00\mu\text{g}$ 、 $12.0\mu\text{g}$ 、 $20.0\mu\text{g}$ 的标准溶液。

1.3 内标溶液的制备

精密量取锂、铈、锆、钇、铟、铪、铀单元素标准溶液适量，用（5+95）硝酸溶液稀释制成每 1mL 各含 100ng 的混合溶液。

1.4 试样溶液的制备

称取样品约 0.5g，置耐压耐高温微波消解罐中，加硝酸 5mL。密闭并按微波消解仪的相应要求及一定的消解程序进行消解。待冷却后取出，缓慢打开消解罐盖排气，用少量水冲洗内盖，将消解罐放在控温电热板上，于 100°C 加热 30min，用水定容至 50mL 容量瓶中，摇匀备用，同时做空白试验。

1.5 仪器条件

仪器 RF 功率 1550W，采样深度 5mm，冷却气流速 14.0L/min，雾化气流速 1.11L/min，辅助气流速 0.80L/min，CCT 碰撞气流速 4.49mL/min。

2 方法学考察

2.1 线性与检测限

以钙 $0\mu\text{g/mL}$ 、 $0.400\mu\text{g/mL}$ 、 $2.00\mu\text{g/mL}$ 、 $4.00\mu\text{g/mL}$ 、 $12.0\mu\text{g/mL}$ 、 $20.0\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。测定时选取的同位素为 ^{43}Ca ，内标元素校正选择内插模式。依次将仪器的样品管插入各个浓度的标准品溶液中进行测定，以测量值(3 次读数的平均值)为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。（线性回归方程及相关系数见下表 1）

表 1 线性回归方程及相关系数

Table 1 The linear regressive equation and correlation coefficients

元素	线性回归方程	相关系数
^{43}Ca	$Y=2929.280 \cdot X+7.522$	$R^2=0.9997$

实验表明， ^{43}Ca 能被检测，专属性较好。且各元素的强度响应值与其浓度之间均具有良好的线性关系。

通过连续进行空白溶液的重复测试，检测限 LOD 按照三倍空白值的标准偏差除以标准曲线的斜率来计算，而定量限 LOQ 按照十倍空白值的标准偏差除以标准曲线的斜率来计算。（见下表 2 测定 11 次的强度值及检出限）

表 2 11 次测量的荧光强度值及检出限

Table 2 The intensity of fluorescence measured by 11 measurements and the limits detection

次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
⁴³ Ca	382.67	322.67	336.67	275.34	278.67	298.00	258.67	279.34	282.00	279.34	288.67

从上表 2 看出，钙的检测限为 0.037ppm。

2.2 精密度

按照标准要求，分别选取测定低限、一合适点、常见限量三个梯度，重复测定 6 次，结果如下表 3。

表 3 精密度

Table 3 Precision

⁴³ Ca	1	2	3	4	5	6	平均值	相对标准偏差
测定低限	0.1387	0.1325	0.1483	0.1355	0.1443	0.1245	0.1373	6.2%
一合适点	0.4062	0.4062	0.4247	0.3844	0.4225	0.4022	0.4077	3.6%
常见限量	0.8221	0.8190	0.8241	0.8352	0.7717	0.8059	0.8130	2.7%

从上表 3 中看出，分别以测定低限、一合适点、常见限量进行精密度实验，其相对标准偏差 RSD 均符合标准的规定要求。

2.3 重复性

以某样品为研究对象，分别取 6 个平行样进行实验。（单位为 mg/kg）

表 4 重复性

Table 4 Repeatability

元素	1	2	3	4	5	6	平均值	相对标准偏差
⁴³ Ca	4.99	4.88	4.72	4.88	4.81	4.76	4.8	2.0%

从上表 4 看出，在相同条件下，测试同一批样品的 6 份平行样，检测结果的重复性均较好，相对标准偏差 RSD 符合标准规定要求。

2.4 有证标准物质验证实验

选择国家有证标准物质蒜粉 GBW10022，分别取样三个平行，按照前处理方法处理，测试结果如下：单位 mg/kg。

表 5 有证标准物质测定值与标准值比较 (n=3)

Table 5 Results for the determination of elements in the certificate(n=3)

标准物质	元素	标准值 mg/kg	实测值 mg/kg	平均值 mg/kg	相对标准偏差 RSD/%
蒜粉	Ca	810±80	804.86	812.2	1.3
GBW1002			807.17		
2			824.42		

通过上表 5 看出，测试结果均在国家标准物质证书标示值的范围之内。

3 总钙与不同形态钙的测定

3.1 测定方法

总钙的测定：称取桑叶粉约 0.5g 精密称定，置耐压耐高温微波消解罐中，加硝酸 5mL，密闭并按各微波消解仪的相应要求及一定的消解程序进行消解。消解完全后，消解液冷却后取出消解罐，将消解液转入 50mL 量瓶中，用少量水洗涤消解罐 3 次，洗液合并于量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，即得，同法制备试剂空白溶液。

不同形态钙含量的测定：参照文献 [7] 中的方法进行提取，以不同提取剂，不同的提取顺序，以及相对应的钙形态见表 6。具体操作步骤：精密称取桑叶粉约 0.5g 于 50mL 离心管中，于超声提取器上用不同溶剂 10mL 依次提取 0.5h，8000r/min 离心 10min，依次将每次提取的上清液移至 25mL 容量瓶中定容，最后剩余的残渣，使用硝酸消解后得到消解溶液 [8]。

浸提液和消解液采用电感耦合等离子体质谱仪测定其中测定钙含量。

表 6 不同形态钙提取顺序及所用试剂 [9]

Table 6 Extraction procedure and reagents of calcium from mulberry leaf powder [9]

提取顺序	提取剂	钙的存在形态
1	80% 乙醇	硝酸钙和氯化钙(ALcCa)
2	蒸馏水	水溶性有机酸钙(H ₂ OCa)
3	1mol/L NaCl	果胶酸钙(NaClCa)
4	2% 醋酸	磷酸钙和碳酸钙(HAC-Ca)

5	0.6% 盐酸	草酸钙(HClCa)
残渣钙	—	硅酸钙(ResCa)

3.2 结果分析

桑叶粉总钙及不同形态含量如表 7 所示。

表 7 桑叶粉中不同形态钙含量

Table 7 The content of calcium in different forms of mulberry leaf powder

钙形态	含量, mg/kg	占比, %
醇溶性钙 (硝酸钙和氯化钙)	510.2	2.1
水溶性有机酸钙	2950.5	12.2
果胶酸钙	6797.6	28.2
磷酸钙和碳酸钙	4611.7	19.1
草酸钙	4792.4	19.9
硅酸钙	4461.9	18.5
总和	24124.3	-
总钙含量	24143.8	-

由表可知,所选桑叶粉中钙含量丰富,达到 24143.8 mg/kg,显著高于牛奶(1100 mg/kg)、豆制品(2300mg/kg)、奶酪(4100mg/kg) 等食品[5]。同时,从表中各形态钙的含量看,水溶性钙、果胶酸钙以及碳酸钙占比 59.5%,对于人体而言,可这 3 种形态钙是能被人体吸收的钙。由此可见,桑叶粉不仅钙含量高,而且其中钙的存在形态有利于人体的消化吸收。

参考文献

- [1] 李佳玮, 张宇聪, 张素葵, 等. 桑叶粉中钙的含量测定及生物利用 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 25—29.
- [2] 吕庆银, 陈阳, 赖富丽等. 桑叶提取物活性成分及其抗氧化与 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(01): 175-180.
- [3] 娄德帅, 范涛, 王储炎, 等. 全蚕粉中 1-脱氧野尻霉素的提取分离及分离物对肿瘤细胞的抑制作用 [J]. 蚕业科学, 2010, 36(1): 109—114.
- [4] 王芳, 励建荣. 桑叶的化学成分、生理功能及应用研究进展 [J]. 食品科学, 2005, 26(21): 111—117.

- [5] 李宏梁, 王建, 郭文.膳食中钙磷比例风险评估的研究 [J]. 食品科技, 2012, 37(4): 101-104.
- [6] 姚雨辰,魏盼盼,李茂等.硫化氢对桑黄菌丝中不同形态钙含量和超氧阴离子产生的影响[J]. 中国食用菌,2020,39(12):106-111+115.
- [7] Ohta Y, Yamamoto K, Deguchi M. Chemical fractionation of calcium in the fresh rice leaf blade and influences of deficiency or oversupply of calcium and age of leaf on the content of each calcium fraction: Chemical fractionation of calcium in some plant species(Part 1) [J] . Journal of the Science of Soil & Manure Japan, 1970, 41: 19 - 26.
- [8] 曹建华, 朱敏洁, 黄芬, 等 .不同地质条件下植物叶片中钙形态对比研究—以贵州茂兰为例 [J] .矿物岩石地球化学通报, 2011, 30(3): 251-260.
- [9] Kenefick S, Cashman K D. Investigation of an in vitro model for predicting the effect of food components on calcium availability from meals [J] . International Journal of Food Sciences & Nutrition, 2009, 51(1): 45 - 54.