



浒苔中铝的含量及存在形态分析

王 晔, 龚芳芳, 陈淑敏, 张玉琦, 李勇勇*, 娄永江*

(宁波大学食品与药学学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 以浙江沿海浒苔为原料, 采用连续浸提和电感耦合等离子发射光谱 (ICP-OES) 相结合的方法, 在分析了不同海域浒苔中铝含量的基础上, 重点探究了浒苔中铝的分布及存在形态, 并对浸提条件进行了优化。其优化浸提参数: 将浒苔粉碎至 20~30 目, 采用 0.8 mol/L 的 HCl 溶液 60 °C 下浸提 60 min, 0.8 mol/L NaOH 溶液 70 °C 下浸提 60 min。结果发现, 浒苔总铝含量高达 1585.25~1776.48 mg/kg, 主要以有机铝和活性铝存在。有机铝主要为可溶多糖结合态铝 (Al_{osu})、小分子蛋白铝 (Al_{pros})、海藻胶结合态铝 (Al_{swg})、大分子蛋白态铝 (Al_{pro})、纤维态铝 (Al_{ofi}), 分别占总铝的 1.77%~2.70%、12.65%~17.11%、39.76%~42.08%、20.31%~22.23%、11.99%~14.51%; 活性铝主要为羟基态铝 [$Al(OH)^{2+}$ 、 Al^{3+} 等]、AlF 和可溶性有机铝 (Al_{osm}), 占总铝的 8.57%~11.38%。实验结果可为浒苔的食用安全性评价和铝限量的标准制定提供科学依据。

关键词: 浒苔; 有机铝; 活性铝; 存在形态; 食用安全性

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 独特的风味和极高的营养价值, 为江浙一带沿海百姓常用的佐料^[1-3]。然而学者们研究表明, 浒苔对海水中的铝有较强的富集能力^[4-6], 近年来多地抽检也证实浒苔的铝含量远超 GB 2760《食品添加剂卫生标准》水产品中铝的残留量 ≤ 100 mg/kg 的标准。

浒苔中的铝主要以有机铝和活性铝 (包括铝离子和化合态铝) 存在, 其形态不同毒性也相差甚远^[7]。三价态、羟基态等活性铝不仅对体内的酶活性、蛋白合成和神经等有毒性作用, 还会导致人体骨骼中钙的大量流失, 而有机铝经安全性评价被认为对人体无毒性^[8-12]。目前国内外对浒苔中铝形态的研究仅限于活性铝, 最常用的方法是 Tessier 法^[13]及 BCR 法^[14], 而关于浒苔中有机铝的分布与检测尚未报道。

本实验在尚德荣等^[15]的基础上, 建立了超

声波辅助连续浸提分离有机铝和活性铝的方法, 研究了浒苔中的有机铝含量及其分布。其结果可为浒苔的食用安全性评价及铝限量的标准制定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

浒苔样品 2018 年 5 月 15 日—6 月 15 日, 在图 1 所示的浙江舟山、宁波、台州、温州海域采样点, 在 3 个不同位置用手抄网 (网孔直径约 4 mm) 打捞当年生整株浒苔, 共采集样品 12 份。

石油醚、超纯水、氢氧化钠、盐酸、硫酸、硝酸、萘酮试剂均为分析纯; $AlCl_3$ 标准溶液美国阿拉丁公司。

1.2 仪器与设备

HX-10-50DG 台式压盖多歧管冷冻干燥机上

收稿日期: 2019-05-27 修回日期: 2020-01-15

资助项目: 国家自然科学基金 (31701516)

通信作者: 李勇勇, E-mail: liyongyong@nbu.edu.cn; 娄永江, E-mail: louyongjiang@nbu.edu.cn

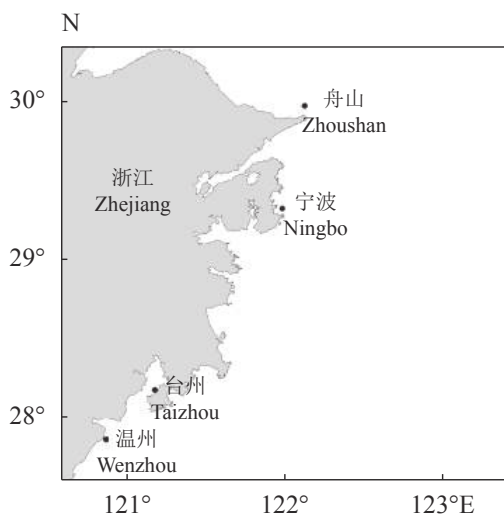


图 1 浒苔采样点

Fig. 1 *E. prolifera* sampling point

海沪析实业有限公司; YC-2 低温层析柜北京亚泰仪器科隆有限公司; RE-52A 旋转蒸发仪上海亚荣生化仪器厂 85-2A 磁力搅拌器常州博远实验分析仪器厂 MARS 微波消解仪美国培安公司; 电感耦合等离子发射光谱 (ICP-OES) 美国 PE 公司; H-2050R 离心机湖南湘仪离心机有限公司; YB1000A 型高速多功能粉碎机上海力箭机械有限公司; SB4200DTS 超声仪南京赛飞生物科技有限公司。

1.3 铝形态的浸提方法

浒苔样品前处理 将采集的浒苔用超纯水冲洗 2~3 次, 洗去表面黏附的泥沙, 105 °C 下烘至恒重, 粉碎过目后置于干燥器中备用。

不同形态铝的含量测定 参考 Haque 等^[16] 铝含量测定方法。精确称取样品 0.2 g 于消解罐中, 加入 5 mL 浓硝酸进行微波消解。微波消解仪工作条件: 功率 800 W, 程序升温时间 6 min, 120 °C 保持 8 min; 再次升温 10 min 至 175 °C, 保持 15 min。微波消解后, 用超纯水定容至 25 mL, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 电感耦合等离子发射光谱法 (ICP-OES) 测定铝含量, 其工作参数为: 功率 1400 W, 载气流速 13 L/min, 辅助气流速 0.8 L/min, 雾化器流速 0.8 L/min, 泵速 35 r/min。平行测定 6 次, 同时做空白对照。

脂肪测定 按 GB 5009.6-2016 食品中脂肪的测定方法执行。

粗蛋白测定 按 GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定方法执行。

多糖测定 苯酚-硫酸法^[17]。

粗纤维测定 按 GB/T 5009.10-2003 植物类食品中粗纤维的测定方法执行。

单因素的选择 粉碎目度为 10~20、20~30、30~40、40~60、60~80、80~100, HCl 和 NaOH 的浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 和 1.2 mol/L, 浸提温度为 20、30、40、50、60、70 和 80 °C。按不同形态铝的含量测定方法测定, 每组平行 6 次。同时做空白对照。

连续浸提流程 选取石油醚、超纯水、盐酸 (1 mol/L) 氢氧化钠 (1 mol/L) 作为浸提剂, 连续浸提 (图 2), 具体操作如下:

①脂溶态组分提取。称取 15 g 浒苔样品置滤纸筒内, 将滤纸筒放入索式抽提管中用石油醚连续抽提 12 h, 获提取液与残渣 a, 分别干燥备用。

②水溶态组分提取。将残渣 a 与超纯水以 1 : 20 (固液比) 在烧杯中混匀, 功率为 200 W, 60 °C 中速搅拌浸提 60 min, 6000 r/min 离心 10 min 得上清液和残渣。取残渣, 加入 10 倍体积的超纯水重复浸提, 离心得上清液和残渣 b。合并上清液, 于真空旋转蒸发仪蒸发浓缩后, 倒入透析袋中 (截留分子量 7000) 低温透析 24 h, 期间定时更换超纯水。得透析液 D1 和保留液 D2, 分别冷冻干燥后备用。

③酸溶态组分提取。将残渣 b 与 0.1 mol/L 盐酸以 1 : 20 (固液比) 在烧杯中混匀, 后续操作步骤同水溶态组分提取, 得残渣 c 及酸提液。酸提液加入约 3 倍体积的无水乙醇醇沉 24 h, 6000 r/min 离心得到的上清液 E1、沉淀物 E2, 分别冷冻干燥后备用。

④碱溶态组分提取。残渣 c 与 0.1 mol/L 的氢氧化钠以 1 : 20 (固液比) 在烧杯中混匀, 后续操作步骤同水溶态组分提取, 得残渣 d 和上清液。上清液用 0.1 M HCl 调节等电点, 沉淀过夜, 6000 r/min 离心 10 min 获沉淀物 F1 及上清液。上清液加入 3 倍体积的无水乙醇醇沉 24 h, 6000 r/min 离心 10 min 得到的上清液 F2 及沉淀物 F3, 分别冷冻干燥后备用。

1.4 数据处理与分析

数据采用 Excel 2013, Origin 9.0 和 SAS 8.5 软件进行处理, 方差分析采用 Duncan 氏法进行多重比较分析, 图中不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.01$)。

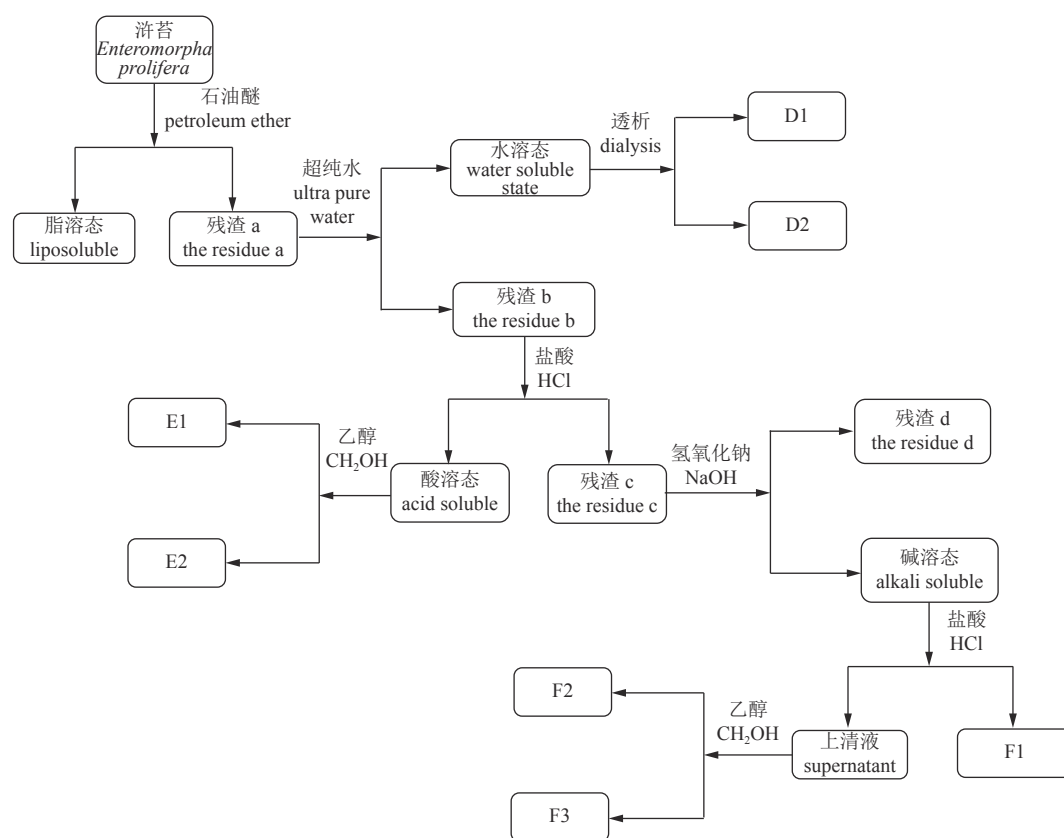


图 2 浒苔连续浸提铝的流程图

Fig. 2 Flow chart of continuous extraction of aluminum from *E. prolifera*

2 结果与讨论

2.1 连续浸提液浸提方法可行性分析

浒苔属单细胞海藻，由表层的细胞壁、细胞膜和内部的细胞质等构成。细胞壁中含有丰富的脂质、多糖、蛋白和纤维等有机物，细胞质中主要为叶绿体和细胞核等细胞器。此外有些细胞中还含有一个或多个淀粉核^[18]。尚德荣等^[15]采用水对浒苔中的活性铝进行了系统的研究，发现活性铝主要为 Al^{3+} 、 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ 、 AlF 、 AlO_{L1} 、 AlO_{L2} 和可溶性的小分子铝。研究同时表明，水提物为 Al^{3+} （自由态铝）、羟基态铝等活性铝，酸提物主要为活性铝 AlF 和小分子有机铝，而碱提物主要为不稳定的有机活性铝^[20-21]。此外，董衡情等^[22]通过碱提酸沉的方法提取马齿苋中的蛋白质，Tang等^[23]通过水提醇沉法提取苋菜中的可溶性多糖，并结合ICP-OES测得蛋白和多糖中铝的含量。本研究结合浒苔自身的特点，设计以石油醚、超纯水、HCl和NaOH作为浸提剂，超声波辅助进行连续提取各组分铝（表1）。结果表明，浒苔中总铝的含量为1585.25~

1776.48 mg/kg，经连续浸提获得的各组分铝含量之和为浒苔总铝的98.76%~105.21%，其误差在可接受范围内（表2）。可见本研究设计的连续浸提法提取各组分的方法可行。

2.2 单因素对浒苔中铝浸出量的影响分析

颗粒大小对铝浸出量的影响 浒苔是由单层细胞围成管状或粘连为带状的鲜绿色藻类，细胞呈圆形，直径在30~60 μm 。随着粒径的下降，铝的浸出量呈现先上升后下降的趋势，在20~30目时浸出量最大（图3）。可见合适的粉碎目度可促进浒苔铝的浸提得率。这是因为，一方面较小的比表面积降低了浒苔铝的浸提得率；另一方面随着浒苔的微细化，内部未吸附铝的官能团不断暴露，浸提出的活性铝离子反而被未吸附的官能团螯合，导致浒苔铝浸提得率的下降^[27]。研究同时表明，与超纯水、HCl二种浸提液相比，NaOH浸提液的铝浸出量下降比较缓慢，这可能是因为OH能与铝形成胶体抑制了浸出活性铝被重新吸附的进程。

浸提温度对铝浸出量的影响 随着温度

表 1 不同浸提液浸提的铝形态及主要形态^[15, 19]

Tab. 1 Aluminum speciation and main speciation extracted from different extracts			
提取剂 extractant	组分 components	铝提取形态 extraction morphology of aluminium	主要铝提取形态 main aluminum extraction forms
disstilled H ₂ O	D1	Al ³⁺ 、Al(OH) ²⁺ 、Al(OH) ₂ ⁺ 、Al(OH) ⁴⁻ 、AlF	Al ³⁺ 、Al(OH) ²⁺ 、Al(OH) ₂ ⁺
	D2	Al _{os} 、Al _{osm} 、Al _{osu} 、Al _{pros}	Al _{os} 、Al _{osu}
HCl	E1	Al ³⁺ 、Al(OH) ²⁺ 、Al(OH) ₂ ⁺ 、Al(OH) ⁴⁻ 、Al _{osm} 、AlF	Al _{osm} 、AlF
	E2	Al _{pros} 、Al _{swg}	Al _{pros}
NaOH	F1	Al _{pro}	Al _{pro}
	F2	Al ³⁺ 、Al(OH) ²⁺ 、Al(OH) ₂ ⁺ 、AlO _{L1} 、AlO _{L2}	AlO _{L1} 、AlO _{L2}
	F3	AlO _{L2} 、Al _{swg}	Al _{swg}
	G	Al _{ofi}	Al _{ofi}

注: AlF包括AlF²⁺、AlF²⁺、AlF₃、AlF₄⁺、AlF₅²⁺; Al_{os}为水溶性有机铝, Al_{osm}为小分子可溶性有机铝, Al_{OL}为不稳定有机铝, Al_{OL1}、Al_{OL2}分别为两种不稳定有机铝。Al_{os}含量极低, 可忽略不计。Al_{osu}为多糖结合态铝, Al_{pros}为酸溶性的小分子蛋白结合态有机铝, Al_{pro}为碱溶性的大分子蛋白结合态有机铝, Al_{ofi}为纤维结合态有机铝。Al_{swg}为海藻胶结合态有机铝
Notes: AlF includes AlF²⁺, AlF²⁺, AlF₃, AlF₄⁺, AlF₅²⁺; Al_{os} is water-soluble organic aluminum, Al_{osm} is small molecule soluble organic aluminum, Al_{pros} is unstable organic aluminum, Al_{OL1} and Al_{OL2} are two kinds of unstable organic aluminum respectively. Al_{os} content is very low and can be ignored. Al_{osu} is polysaccharide binding aluminum, Al_{pros} is acid soluble small molecule protein binding organic aluminum, Al_{pro} is alkali soluble large molecule protein binding organic aluminum, Al_{ofi} is fiber binding organic aluminum. Al_{swg} is a kind of algal cemented organic aluminum

表 2 浒苔中不同组分铝的含量

Tab. 2 Aluminum content of different components in <i>E. prolifera</i>		mg/kg					
		浒苔中的总铝 total aluminum in <i>E. prolifera</i>	浒苔中各组分铝的含量 content of aluminum in <i>E. prolifera</i>				
			脂溶态 fat soluble	水溶态 water soluble	酸溶态 acid soluble	碱溶态 alkali soluble	残渣 residue
样品1	sample 1	1 776.48±3.21	0	81.89±1.24	360.63±3.21	1 172.48±4.53	230.94±1.25
样品2	sample 2	1 653.13±2.51	0	81.17±0.89	335.58±2.31	1 086.10±3.78	223.83±1.20
样品3	sample 3	1 585.25±4.21	0	87.19±0.98	321.81±3.12	1 031.99±4.21	229.86±0.98
样品4	sample 3	1 689.86±3.25	0	69.96±0.67	277.14±2.12	1 137.28±3.87	205.49±0.87

注: 样品1、样品2、样品3、样品4分别为舟山、宁波、台州、温州采取样品,下同
Notes: sample 1, sample 2, sample 3 and sample 4 are samples taken from Zhoushan, Ningbo, Taizhou and Wenzhou respectively, the same below

的升高, 超纯水和 HCl 浸提组中铝的浸出量先升高而后逐渐趋于稳定, 在 60 °C 时铝的浸出量达到最大值。NaOH 浸提组随着温度的升高, 在 70 °C 时达到了最大浸出量, 随着温度的升高又出现缓慢下降趋势(图 4)。这与袁爽等^[7]研究不同浓度的 HCl 和 NaOH 对铝的浸出量的影响的结果基本一致。这可能是因为此时 HCl 将细胞膜破坏, 细胞内的酸溶性活性铝和有机铝被完全浸提; NaOH 达到 0.8 mol/L 时可将细胞壁完全破坏, 从而浸提出细胞壁中的蛋白结合态铝。

浸提液浓度对铝浸出量的影响 随着 HCl 和 NaOH 溶液浓度的逐渐增高, 铝的浸出量逐渐上升, 当浓度大于 0.8 mol/L 时, 铝的浸出

量开始趋于稳定; 经过显著性分析, HCl 和 NaOH 溶液的最佳浓度为 0.8 mol/L (图 5)。

2.3 浒苔中不同形态铝的含量及分布

不同溶解态铝的含量 4 个样品中碱溶态中铝的含量最高, 占总铝的 65.09%~67.30%; 水溶态、酸溶态、残渣中铝的含量分别占总铝的 4.16%~5.50%、16.40%~20.30%、12.16%~14.59%, 脂溶态铝未被检出(表 2)。

浒苔中铝的存在形态的含量及分布 浒苔中的活性铝约占总铝的 8.57%~11.38%, 毒性最强的为羟基态铝和三价铝离子, 毒性次之的是氟化铝和小分子的可溶性有机铝, 毒性最弱

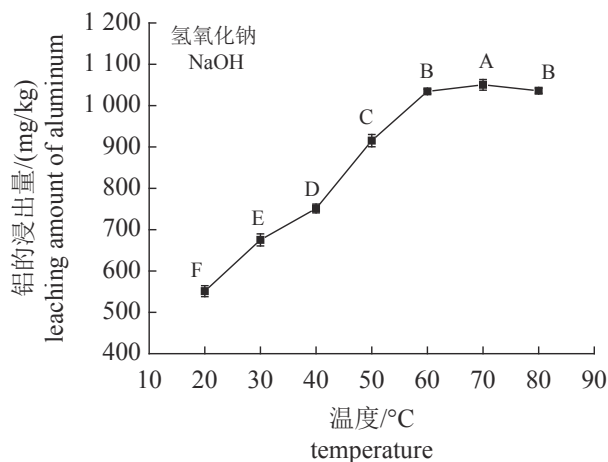
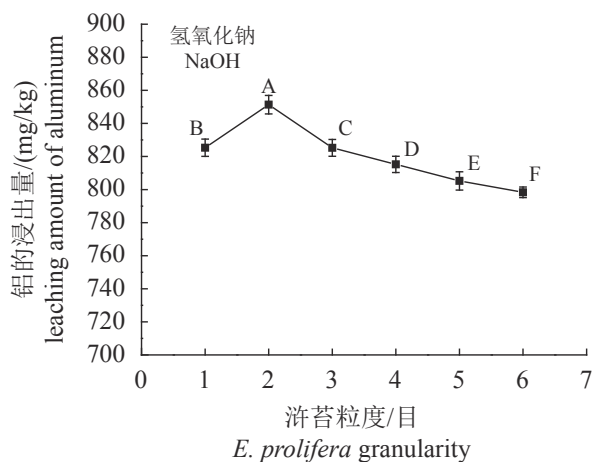
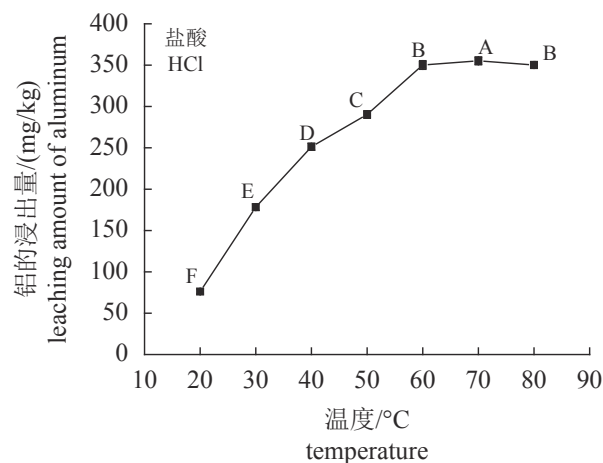
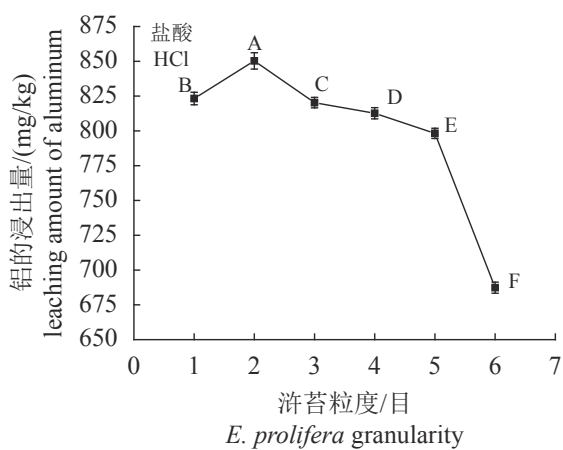
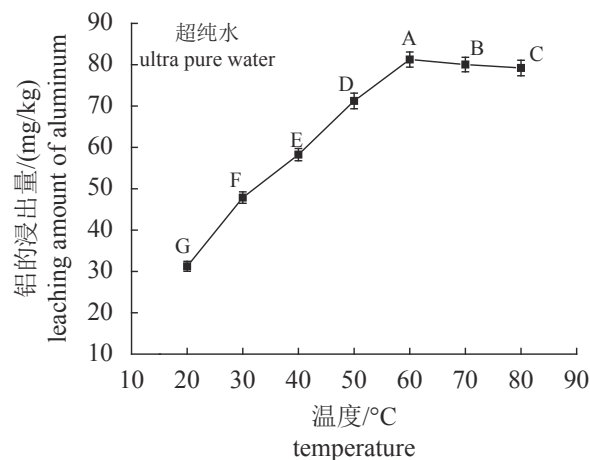
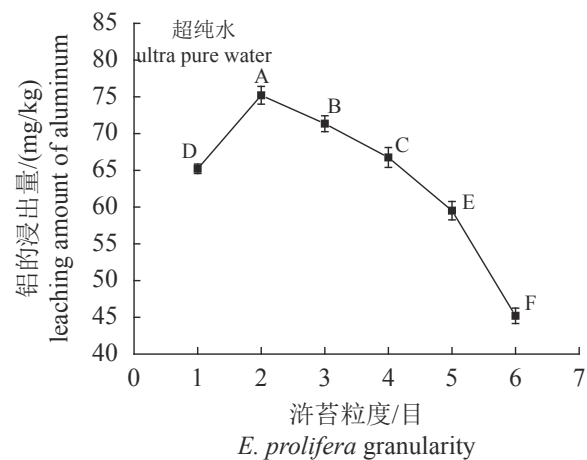


图3 浒苔颗粒大小对铝浸出量的影响

Fig. 3 Effect of the grain size of *E. proliferata* on the aluminum leaching

1. 10~20, 2. 20~30, 3. 30~40, 4. 40~60, 5. 60~80, 6. 80~100, 7. 100~120

的为不稳定态铝 Al_{OL} [24-26], 分别占总铝的 2.37%~2.82%、2.99%~4.76%、3.21%~3.80%。数据显示, 稳定态铝约占总铝的 88.62%~91.43%; 包括多糖结合态铝 (Al_{osu})、小分子蛋白铝 (Al_{pros})、与海藻胶结合态铝 (Al_{swg})、大分子蛋白结合态铝 (Al_{pro})、

<https://www.china-fishery.cn>

图4 温度对铝浸出量的影响

Fig. 4 Effect of temperature on aluminum leaching

纤维结合态铝 (Al_{ofi}), 分别占总铝的 1.77%~2.70%、12.65%~17.11%、39.76%~42.08%、20.31%~22.23%、11.99%~14.51%(表3)。

2.4 浒苔中不同形态铝的分析

水溶态铝约占总铝的 4.16%~5.50%。水溶态铝主要为可溶性多糖结合态铝 (Al_{osu}), Lee 等 [28] 发

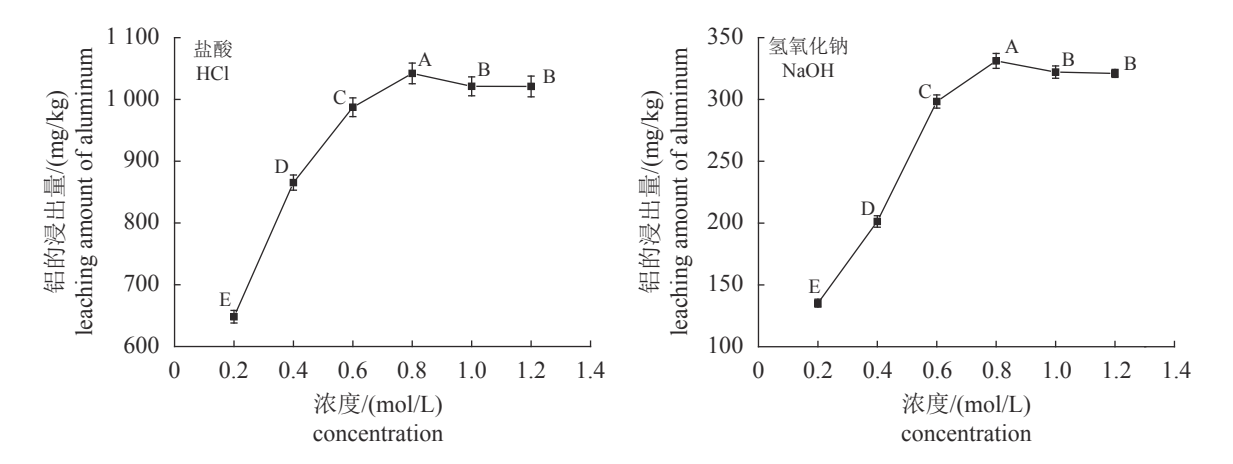


图 5 浓度对铝浸出量的影响

Fig. 5 Effect of concentration on aluminum leaching

表 3 不同形态铝占总铝的百分比

Tab. 3 Percentage of different forms of aluminium in total aluminium %

		Al(OH) ²⁺ Al ³⁺	Al _{osu}	AlFAI _{osm}	Al _{pros}	Al _{swg}	Al _{pro}	Al _{OL}	Al _{ofi}
样品1	sample 1	2.82±0.03	1.79±0.11	3.21±0.12	17.11±0.13	42.08±0.11	20.31±0.11	3.69±0.11	11.99±0.01
样品2	sample 2	2.99±0.01	1.91±0.04	4.76±0.11	15.51±0.18	39.76±0.23	22.23±0.87	3.21±0.65	13.62±0.56
样品3	sample 3	2.80±0.12	2.72±0.01	5.17±0.09	12.65±0.09	40.19±0.19	21.16±0.77	3.80±0.89	14.53±0.66
样品4	sample 4	2.37±0.01	1.71±0.02	2.99±0.07	13.39±0.14	41.47±0.43	22.18±0.88	3.67±0.77	12.16±1.34

注: AIF包括AlF²⁺、AlF²⁺、AlF₃、AlF₄⁺、AlF₅²⁺; Al_{os}为水溶性有机铝, Al_{osm}为小分子可溶性有机铝, Al_{OL}为不稳定有机铝, Al_{OL1}、Al_{OL2}分别为两种不稳定有机铝。Al_{os}含量极低,可忽略不计。Al_{osu}为多糖结合态铝, Al_{pros}为酸溶性的小分子蛋白结合态有机铝, Al_{pro}为碱溶性的大分子蛋白结合态有机铝, Al_{ofi}为纤维结合态有机铝。Al_{swg}为海藻胶结合态有机铝

Notes: AIF includes AlF²⁺, AlF²⁺, AlF₃, AlF₄⁺, AlF₅²⁺; Al_{os} is water-soluble organic aluminum, Al_{osm} is small molecule soluble organic aluminum, Al_{pro} is unstable organic aluminum, Al_{OL1} and Al_{OL2} are two kinds of unstable organic aluminum respectively. Al_{os} content is very low and can be ignored. Al_{osu} is polysaccharide binding aluminum, Al_{pros} is acid soluble small molecule protein binding organic aluminum, Al_{pro} is alkali soluble large molecule protein binding organic aluminum, Al_{ofi} is fiber binding organic aluminum. Al_{swg} is a kind of algal cemented organic aluminum

现胞外的可溶性多糖的阴离子基团, 例如丙酮酸盐、羧基、磷酸盐等可与金属离子结合形成稳定的多糖化合物。此外, 水溶态铝中还含有Al³⁺和羟基态铝[Al(OH)²⁺、Al(OH)₂⁺、Al(OH)₄⁻]。碱溶态铝含量占总铝的65.09%~67.30%。高浓度NaOH可破坏植物的细胞壁, 从而浸提出细胞壁中的海藻胶和大分子蛋白质组分^[29]。而铝可与氨基酸进行配位, 例如与组氨酸中的咪唑、氨基、羧基等结合形成稳定的氨基酸-铝复合物, 这可能是蛋白结合态铝(Al_{pro})的前体物质^[30]。浒苔中的铝与海藻单糖鼠李糖、木糖、葡萄糖醛酸和半乳糖结合形成单糖-铝复合物, 进而形成海藻胶结合态铝(Al_{swg})。此外, 还含有少量溶于碱的羟基态铝[Al(OH)²⁺、Al(OH)₂⁺]和活性铝(Al_{OL})。酸溶态铝占总铝的16.40%~20.30%。HCl可破坏植物的细胞膜, 故酸溶态主要成分为胞内酸溶性活性铝及少量的海藻糖胶、海藻淀粉、

小分子蛋白结合铝。Monteiro等^[30]研究发现, 细胞质中的小分子蛋白和海藻胶等, 如金属硫蛋白(metallothionein)和卡拉胶等成分能与金属铝结合为小分子蛋白结合态化合物和海藻糖胶结合态化合物。此外, 还含有胞内的可溶性的小分子有机铝(Al_{osm}), AIF和少量的羟基态铝[Al(OH)²⁺、Al(OH)₂⁺]。纤维结合态铝占总铝的12.16%~14.59%。残渣主要以纤维为主存在于细胞壁中, 是由葡萄糖组成的结构复杂的大分子多糖。纤维素中的官能基团, 例如硫酸根、氨基、磷酸基、醛基、羟基、酰氨基等中的氮、氢、氧形成孤电子对, 形成稳定的纤维结合态铝(Al_{ofi})^[23, 31-32]。

2.5 浒苔对铝的富集作用

样品浒苔中总铝的含量高达1585.25~1776.48 mg/kg, 这可能与浒苔含有较高蛋白、纤维等

大分子物质有关。从表中可以看出浒苔中粗纤维的含量最高，约占浒苔干重的 32.21%~38.65%。其次是总糖，约占浒苔干重的 28.14%~32.37%，蛋白占浒苔的 11.49%~14.56%(表 4)。

表 4 浒苔中不同成分的含量
Tab. 4 Contents of different components in *E. prolifera* %

编号 number	纤维 fibre	蛋白质 protein	粗脂肪 crude fat	总糖 total sugar
样品1 sample 1	38.65±1.23	14.56±0.32	4.00±0.12	30.12±1.24
样品2 sample 2	36.22±1.45	13.80±0.21	3.60±0.15	28.22±1.46
样品3 sample 3	35.37±1.34	12.01±0.14	3.30±0.13	32.37±0.98
样品4 sample 4	32.21±1.47	11.49±0.45	3.83±0.15	28.14±1.37

结合前人研究，海藻干样中铝的含量(mg/kg): 浒苔 (1585.25)>珊瑚藻 (729)>海带 (650)>紫菜 (350)>江蓠菜 (200)^[33]。这主要与环境 and 浒苔自身因素有关。酸雨、河流输入和大气沉降会导致近海岸的铝离子本底值增高，从而导致浒苔的铝含量增高^[34-35]。由于物种差异，藻类对于金属的吸附能力也具有一定的差异性，与其它海藻相比，浒苔扩增能力强，能够短时间内释放大量的孢子^[36]；此外，其自身的生长习性(多生长于海湾类的岩石和石沼中)和细长、多黏连叶片的形态特征也极大的提高了浒苔对铝的吸附^[37]。由表 3 可知，浒苔中含有丰富的蛋白、多糖和纤维等；与紫菜和海带等相比，浒苔含有较高的海藻胶和蛋白等大分子物质，因此浒苔可以为金属结合提供大量的结合位点^[38]。浒苔对铝离子具有较强的选择吸附性，徐良轩等^[39]类吸附金属离子的亲和力和选择性进行了描述，发现不同的藻类对不同的金属离子吸附能力差距很大。Vijver 等^[40]研究发现，浒苔对于不同金属离子的吸附能力为 Al>Ni>Cd>Zn。

3 结论

浒苔中铝以有机铝和活性铝等 2 种形态存在，其中 87.76%~90.21% 的铝是与蛋白、多糖、纤维等有机物结合的稳定态铝，而毒性最强的羟基态铝和 Al³⁺仅占 2.37%~2.82%。因此，以总铝来评价浒苔的食用安全性有待商榷。

参考文献 (References):

[1] 周秋梅, 陈小燕, 段定. 浒苔多糖的提取工艺研究[J]. 科技视界, 2018(1): 48, 51.
Zhou Q M, Chen X Y, Duan D. Study on extraction process of polysaccharide from *Enteromorpha*[J]. Science & Technology Vision, 2018(1): 48, 51(in Chinese).

[2] 林英庭, 朱风华, 王利华, 等. 浒苔的营养成分及安全性评价[J]. 饲料工业, 2015, 36(16): 1-6.
Lin Y T, Zhu F H, Wang L H, et al. Nutritional components and safety evaluation of *Enteromorpha prolifera*[J]. Feed Industry, 2015, 36(16): 1-6(in Chinese).
[3] 单俊伟, 刘海燕, 马栋. 浒苔的研究与资源化利用进展[J]. 现代农业科技, 2016(15): 258-260.
Shan J W, Liu H Y, Ma D. Research and resourcefulization application progress of *Enteromorpha*[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2016(15): 258-260(in Chinese).
[4] 段文锋, 熊薇, 余琳. 苔条铝含量高的原因探究求[J]. 食品工业, 2010(6): 87-88.
Duan W F, Xiong W, Yu L. An exploration into the cause of high aluminum content in *Enteromorpha prolifera*[J]. Food Industry, 2010(6): 87-88(in Chinese).
[5] 李宁, 任伯帆, 周莹莹, 等. 土壤重金属污染危害及修复方法研究[J]. 广州化工, 2017, 45(9): 30-32.
Li N, Ren B Z, Zhou Y Y, et al. Study on pollution and remediation of heavy metals in soil[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2017, 45(9): 30-32(in Chinese).
[6] 尚德荣, 赵艳芳, 宁劲松, 等. 海藻中铝的化学形态分析[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 539-542.
Shang D R, Zhao Y F, Ning J S, et al. Speciation analysis of aluminium in seaweed[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(4): 539-542(in Chinese).
[7] 袁爽, 蔡怀依, 许翔, 等. 条浒苔中铝的化学形态分析[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 44-48, 53.
Yuan S, Cai H Y, Xu X, et al. Speciation analysis of aluminum in *Enteromorpha clathrata*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(20): 44-48, 53(in Chinese).
[8] 张立丰, 赵丽妮, 白春玉, 等. 亚慢性铝暴露对大鼠学

- 习记忆及大脑皮质c-fos mRNA和c-Fos蛋白表达的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2016, 32(4): 447-451.
- Zhang L F, Zhao L N, Bai C Y, *et al.* Effects of sub-chronic aluminum exposure on learning and memory c-fos mRNA and c-Fos protein expression of cerebral cortex in rats[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2016, 32(4): 447-451(in Chinese).
- [9] Chaudhary M, Joshi D K, Satapathy M K, *et al.* Protective role of docosahexaenoic acid on aluminum induced neurochemical and neurobehavioral changes in rat central nervous system[J]. International Journal of Developmental Neuroscience, 2012, 30(8): 691-692.
- [10] 周易枚, 陈彬, 蒋林惠, 等. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法检测食品中的铝[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(12): 4736-4740.
- Zhou Y M, Chen B, Jiang L H, *et al.* Determination of aluminium in food by graphite furnace atomic absorption spectrometry with microwave digestion[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2017, 8(12): 4736-4740(in Chinese).
- [11] Klein G L. Aluminum toxicity to bone: A multisystem effect?[J]. *Osteoporosis and Sarcopenia*, 2019, 5(1): 2-5.
- [12] Qiao, Niu. Overview of the Relationship Between Aluminum Exposure and Health of Human Being[J]. *Advances in Experimental Medicine & Biology*, 2018.
- [13] Wang M M, Ren L S, Wang D Y, *et al.* Assessing the capacity of biochar to stabilize copper and lead in contaminated sediments using chemical and extraction methods[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 79: 91-99.
- [14] 曹会聪, 王金达, 张学林. BCR法在污染农田黑土重金属形态分布研究中的应用[J]. *水土保持学报*, 2006, 20(6): 163-166, 174.
- Cao H C, Wang J D, Zhang X L. Application of sequential extraction of BCR to forms distribution of heavy metals in polluted black soil[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2006, 20(6): 163-166, 174(in Chinese).
- [15] 尚德荣, 赵艳芳, 张继红, 等. 海藻中铝形态分析技术[J]. *渔业科学进展*, 2013, 34(5): 112-118.
- Shang D R, Zhao Y F, Zhang J H, *et al.* Speciation analysis of aluminum in the seaweed[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(5): 112-118(in Chinese).
- [16] Haque M N, Islam M M T, Hassan M T. Determination of Heavy Metal Contents in Frequently Consumed Fast Foods of Bangladesh[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 2018, 89(2): 543-549.
- [17] 徐汪伟, 魏晴, 高炳淼, 等. 苯酚-硫酸法测定中药海马总多糖的含量的研究[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015(03): 85-86.
- Xu Wangwei, Wei Qing, Gao bingmiao, *et al.* Study on the determination of total polysaccharides in hippocampus by phenol sulfuric acid method[J]. *Journal of Qiqihar Medical College*, 2015(03): 85-86.
- [18] Yuan X, Zheng J, Ren L, *et al.* Enteromorpha prolifera oligomers relieve pancreatic injury in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 206: 403-411.
- [19] 杨秀丽. 海藻中几种金属元素形态的研究 [D]. 中国海洋大学, 2010.
- Yang Xiuli. Study on the forms of several metal elements in seaweed[D]. Ocean University of China, 2010 (in Chinese) .
- [20] Panhwar A H, Tuzen M, Kazi T G. Deep eutectic solvent based advance microextraction method for determination of aluminum in water and food samples: Multivariate study[J]. *Talanta*, 2018, 178: 588-593.
- [21] Hafez E M, El Sheikh R, Fathallah M, *et al.* An environment-friendly supramolecular solvent-based liquid-phase microextraction method for determination of aluminum in water and acid digested food samples prior to spectrophotometry[J]. *Microchemical Journal*, 2019, 150: 104100.
- [22] 董衡情, 王聪, 郑莲, 等. 马齿苋籽粕蛋白的提取及分离纯化[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(6): 223-226, 233.
- Dong H Q, Wang C, Zheng L, *et al.* Optimization of extraction technology and purification of seed meal protein from *Portulaca oleracea* L.[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(6): 223-226, 233(in Chinese).
- [23] Tang Y J, Xiao Y R, Tang Z Z, *et al.* Extraction of polysaccharides from *Amaranthus hybridus* L. by hot water and analysis of their antioxidant activity[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7149.
- [24] 梁逸超, 崔玲玲, 王维. 铝与阿尔茨海默病的研究进展[J]. *医学综述*, 2009, 15(16): 2455-2458.
- Liang Y C, Cui L L, Wang W. Aluminium and Alzheimer disease[J]. *Medical Recapitulate*, 2009,

- 15(16): 2455-2458(in Chinese).
- [25] King S W, Savory J, Wills M R. The clinical biochemistry of aluminum[J]. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1981, 14(1): 1-20.
- [26] Johnson G V W. The effects of aluminum on agonist-induced alterations in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations in rat brain regions *in vivo*[J]. *Toxicology*, 1988, 51(2-3): 299-308.
- [27] 董彩娥. 三种褐藻对重金属 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Ni^{2+} 的吸附研究 [D]. 广州: 广州大学, 2015.
- Dong C E. Studies on the absorption of heavy metal Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} by three brown algal biomass[D]. Guangzhou: Guangzhou University, 2015 (in Chinese).
- [28] Lee M G, Lim J H, Kam S K. Biosorption characteristics in the mixed heavy metal solution by biosorbents of marine brown algae[J]. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2002, 19(2): 277-284.
- [29] Hadiyanto H, Sutrisnorhadi S. Response surface optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of Phycocyanin from microalgae *Spirulina platensis*[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2016, 28(4): 227-234.
- [30] Monteiro C M, Castro P M, Malcata F X. Metal uptake by microalgae: Underlying mechanisms and practical applications[J]. *Biotechnology Progress*, 2012, 28(2): 299-311.
- [31] Chojnacka K, Chojnacki A, Górecka H. Trace element removal by *Spirulina* sp. from copper smelter and refinery effluents[J]. *Hydrometallurgy*, 2004, 73(1-2): 147-153.
- [32] Volesky B, Weber J, Park J M. Continuous-flow metal biosorption in a regenerable *Sargassum* column[J]. *Water Research*, 2003, 37(2): 297-306.
- [33] 王丹红, 蔡春平, 吴文晔, 等. 连续浸提法结合 ICP-OES 分析藻类中铝形态[J]. *福建分析测试*, 2014, 23(4): 37-40.
- Wang D H, Cai C P, Wu W X, *et al.* The study on speciation of aluminum in algae samples with sequential extraction combined with ICP-OES[J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2014, 23(4): 37-40(in Chinese).
- [34] Golding L A, Angel B M, Batley G E, *et al.* Derivation of a water quality guideline for aluminium in marine waters[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2015, 34(1): 141-151.
- [35] 吕兴. 模拟酸雨对土壤中 Al 的释放与缓冲作用研究[J]. *环境研究与监测*, 2017, 30(1): 12-14.
- Lv X. Study on the emissions and buffer mechanism of Al in the soil with simulated acid rain[J]. *Environmental Research and Monitoring*, 2017, 30(1): 12-14(in Chinese).
- [36] 陈群芳, 何培民, 冯子慧, 等. 漂浮绿潮藻浒苔孢子/配子的繁殖过程[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(5): 1069-1076.
- Chen Q F, He P M, Feng Z H, *et al.* Reproduction of spores/gametes of floating green tide algae *Ulva prolifera*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(5): 1069-1076(in Chinese).
- [37] 郑阵兵, 高山, 王广策. 2017 年绿潮浒苔 (*Ulva prolifera*) 生理特征及孢子囊形成情况分析[J]. *海洋与湖沼*, 2018, 49(5): 999-1005.
- Zheng Z B, Gao S, Wang G C. Physiological characteristics and sporangium formation of Green-tide species *Ulva prolifera* in 2017[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, 49(5): 999-1005(in Chinese).
- [38] 王辉. 三种海洋微藻的培养优化及其对铜和锌的吸附研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2016.
- Wang Hui. Culture optimization of three marine microalgae and their adsorption of copper and zinc[D]. qingdao: Ocean University of China, 2016.
- [39] 徐良轩, 艾天, 于志, 等. 海藻对废水中重金属吸附的研究进展[J]. *辽宁科技大学学报*, 2016, 39(4): 273-278.
- Xu L X, Ai T, Yu Z, *et al.* Progress in research of adsorption of heavy metals by algae in wastewater[J]. *Journal of University of Science and Technology Liaoning*, 2016, 39(4): 273-278(in Chinese).
- [40] Vijver M G, Van Gestel C A, Lanno R P, *et al.* Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(18): 4705-4712.

Analysis of the content and speciation of aluminum in *Enteromorpha prolifera*

WANG Ye, GONG Fangfang, CHEN Shumin, ZHANG Yuqi, LI Yongyong*, LOU Yongjiang*

(College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The method of continuous extraction and inductively coupled plasma emission spectroscopy (ICP-OES) was adopted. The raw material was *Enteromorpha prolifera* from Zhejiang coast. Based on the analysis of aluminum content in *Enteromorpha prolifera* from different sea areas, the distribution and existing forms of aluminum in *E. prolifera* were mainly investigated, and the extraction conditions were optimized. The optimized extraction parameters are as follows: *E. prolifera* was comminuted to 20-30 mesh, extracted for 60 min with 0.8 mol / L HCl solution at 60 °C, extracted for 60 min with 0.8 mol / L NaOH solution at 70 °C. The results showed that the total aluminum content of *E. prolifera* was as high as 1 585.25-1 776.48 mg/kg, mainly organic aluminum and active aluminum. Organic aluminum is mainly soluble polysaccharide-bound aluminum (Al_{osu}), small molecular protein aluminum (Al_{pros}), seaweed gel-bound aluminum (Al_{swg}), large molecular protein aluminum (Al_{pro}), and fibrous aluminum (Al_{ofi}), which account for 1.77%-2.70%, 12.65%-17.11%, 39.76%-42.08%, 20.31%-22.23%, and 11.99%-14.51% of the total aluminum, respectively. Active aluminum is mainly hydroxyl aluminum ($Al(OH)^{2+}$, Al^{3+} , etc.), AlF and soluble organic aluminum (Al_{osm}), accounting for 8.57%-11.38% of the total aluminum. The above experimental results can provide scientific basis for the evaluation of food safety and the establishment of aluminum limit standard of *E. prolifera*.

Key words: *Enteromorpha prolifera*; organo aluminium; active aluminum; speciation; food safety

Corresponding authors: LI Yongyong. E-mail: liyongyong@nbu.edu.cn;

LOU Yongjiang. E-mail: louyongjiang@nbu.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31701516)