

可食植物中砷赋存形态研究进展*

柳晓娟¹ 林爱军² 孙国新³ 刘云霞³ 刘文菊^{1**}

(¹ 河北农业大学资源与环境科学学院, 河北保定 071000; ² 北京化工大学环境科学与工程系, 北京 100029; ³ 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085)

摘要 砷是环境中普遍存在的一种化学元素,近年来日益严重的砷污染问题在世界范围内受到高度重视,我国目前已经成为世界卫生组织(WHO)列出的砷污染最严重的国家和地区之一. 经口摄入是外界砷进入人体并累积产生生物毒性的主要途径. 可食植物是人类饮食结构中不可缺少的部分,食品总砷含量并不能完全决定其毒性大小,砷的赋存形态与其生物毒性密切相关,无机砷已被确认为致癌物质. 本文主要综述了不同种类可食植物中砷形态的分析方法,以及砷的主要赋存形态及其生物毒性.

关键词 可食植物 砷形态 分析方法 生物毒性

文章编号 1001-9332(2010)07-1883-09 **中图分类号** X132 **文献标识码** A

Arsenic speciation in edible plants: A review. LIU Xiao-juan¹, LIN Ai-jun², SUN Guo-xin³, LIU Yun-xia³, LIU Wen-ju¹ (¹College of Natural Resources and Environment Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, Hebei, China; ²Department of Environmental Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China; ³Department of Soil Science, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2010, 21(7): 1883–1891.

Abstract: Arsenic (As) is a ubiquitous chemical element in environment, and the increasingly serious As pollution is highly concerned all over the world. China has been considered as one of the countries and regions with serious As pollution in the world by the World Health Organization (WHO). Recent studies indicated that food is one of the major contributors of As in human diets. Edible plants are essential in the diet structure in human life, which often contain high level of As. However, the total As in food can not exactly reflect the toxicity of As, while As speciation closely relates to the As bio-toxicity. Inorganic arsenic is verified as the carcinogen based on human epidemiological data. This paper reviewed the As species in edible plants, their bio-toxicity, and analytical methods.

Key words: edible plant; arsenic speciation; analytical method; biological toxicity.

砷在自然界中普遍存在,过量砷供应或微量砷的长期暴露会对植物、动物和人体产生毒害作用. 环境砷污染的主要成因包括自然和人为因素^[1]. 自然因素包括地壳组成、土壤、水体、大气和生物有机体,如孟加拉国水稻砷污染就是由于该地区地下水砷水平较高,当地农民用地下水灌溉导致农田土壤砷污染^[2]. 人为因素包括农药、化肥、燃烧产生的粉尘以及工农业废弃物的处理^[1],如湖南矿区生长的稻米砷含量($0.303 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)是无矿区($0.163 \text{ mg} \cdot$

kg^{-1})的2倍^[3]. 砷由污染的水体、食物和空气经食物链进入人体后,随血液流动分布于全身各组织器官,可引发多器官组织和功能上的异常改变,导致急性或慢性砷中毒^[1]. 鉴于砷在体内慢性积累会对人体造成潜在健康危险,且食品是砷进入人体的主要途径之一,所以目前国际上对食品中砷的生物毒性及其对人体健康风险的研究日益增多. 砷在生物体内的毒性大小与砷赋存的化学形态密切相关,国际癌症研究所已确认无机砷为致癌物质^[4],且癌症风险与无机砷的暴露程度呈线性关系^[5]. 针对目前该领域的研究现状,本文就砷在可食植物中的化学形态进行了综述.

* 河北省自然科学基金项目(C2009000590)和国家科技支撑计划项目(2006BAI09B03)资助.

** 通讯作者. E-mail: liuwj@hebau.edu.cn

2009-10-27 收稿,2010-04-11 接受.

DMA,表明砷糖对人体存在潜在的健康风险^[12]。另外,砷甜菜碱(AsB)也是植物体内为数不多的无毒砷形态之一^[13]。

2 可食植物砷形态分析方法

从分析化学的角度考虑,对样品砷形态的分析过程大致分为样品中砷形态的提取、形态分离和测定这几个步骤。由于环境中砷的化学形态并非一成不变,它会受温度、砷化物的浓度、放置时间、添加物的种类及光照等条件的影响而变化^[9],所以整个分析过程必须有严格的质量控制,将分析过程中砷形态之间的转化减少到最低限度。

现阶段一般采用加入溶剂并借助一些辅助手段来提取样品中不同形态的砷。主要的提取试剂可以分为无机试剂、有机试剂和生化酶类;常见的提取辅助手段包括常温振荡、加热提取、索氏提取、超声提取、加速溶剂提取(accelerated solvent extraction, ASE)和微波辅助提取。

在无机试剂中,由于 HCl 被成功地用于牡蛎肌肉组织砷的提取,所以 Schoof 等^[14]将 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 用来提取精米中的砷,回收率在 73% ~ 139%,对其中两个样品进行加标回收试验,结果分别是:总砷为 112% 和 114%、MMA 为 91% 和 91%、DMA 为 74% 和 75%、无机砷为 66% 和 77%。随着现代分析技术的发展,高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用法(HPLC-ICP-MS)以其高灵敏度、低检出限和方便快捷等优点成为目前最优的形态分析方法,然而 HCl 会与仪器中的氩气反应生成 ArCl,因为 ArCl 的分子量与 As 的原子量相等,大量的氯离子会使电感耦合等离子质谱的背景值升高,干扰测定^[15]。 H_3PO_4 也被用于砷的提取,Bohari 等^[16]用 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4$ 微波辅助提取稻米和葱、胡椒、马铃薯、胡萝卜等蔬菜中的砷,并得到了较好的提取效率。同样,用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4$ 提取稻米和小麦粉中的砷,提取效率达到 92%,加标回收率也达到 90% 以上^[17]。但由于磷酸是难挥发性的酸,它会在测定过程中不断累积而残留于进样管壁内,使现阶段一些高精度或某些对进样液体要求较高仪器的进样管发生堵塞现象,为了避免这种现象,最大化延长仪器的使用寿命,磷酸提取便受到了限制。研究者们一直努力探求快速简单高效的分析方法,Zhu 等^[3]利用 1% HNO_3 微波辅助提取稻米中的砷,回收率达到 93%,加标回收率在 78% ~ 89%,该方法操作简单、安全性好、用时短,是目前稻米砷形态分析的一

种高效的提取方法。

有机试剂中最常用的是各种配比的甲醇水混合提取液,这种方法较早期被成功用于海洋生物。Castlehouse 等^[18]用 1:10 的甲醇与水的混合溶液超声提取了两种海藻中的砷,回收率分别在 100% 和 68%。Wei 等^[19]用甲醇:水(1:1)的混合溶液超声提取紫菜中的砷,提取效率高达 90% 以上。甲醇溶液能够有效提取食用藻类中的砷^[8],但对稻米及稻米秸秆砷的提取效率却不高^[16],文献报道对部分稻米秸秆的砷回收率不到 10%^[20]。这可能是由于甲醇溶液对 As(III) 提取效率较低的缘故^[21]。对于油脂含量较高的样品如坚果,其砷主要集中在油脂部分,故 Kannamkumarath 等^[22]先用氯仿:甲醇(2:1)超声提取 30 min,然后加入去离子水,待溶液分层之后倒掉水溶液部分,之后蒸干溶剂,取残渣溶于酸中待测,其提取效率为 72.7% ~ 90.6%。然而氯仿提取一般也多用于海产品,较少用于其他植物。

三氟乙酸(TFA)是另一种比较经典的用于砷提取的有机试剂,其提取过程通常是将样品置于 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 中,120 °C 下加热 6 h 直至蒸干^[15]。Heitkemper 等^[15]为提取稻米中的砷形态,分析了 50% 甲醇溶剂提取、去离子水加热 ASE 提取、室温下不同浓度的甲醇溶液 ASE 提取、先后 α -淀粉酶提取与 50% 甲醇溶剂提取和 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热提取这几种方法的提取效率,结果表明,不论是标准物质还是样品,只有 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热提取能够达到很高的提取效率(标准物质 112%,样品 92%)。Abedin 等^[20]分别用甲醇:水(1:1)的混合溶液超声提取和 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热提取的方法提取稻米茎秆中的砷,结果显示甲醇溶液的提取效率不到 20%,而 TFA 的提取效率达 80% 以上。可见, $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热提取的方法对稻米及其茎叶类砷的提取效率很高。但该方法也有一定的局限性,因为 TFA 会把 As(V) 还原为 As(III),所以提取结果通常会被表示为 As(III) 与 As(V) 两种形态之和,即无机砷含量。无机砷的毒性远大于有机砷,评价食品中无机砷的人体健康风险意义更为重大,所以在稻米、蔬菜等可食植物中该方法得到了广泛运用^[23-25]。

不管是甲醇、氯仿还是三氟乙酸,频繁使用均会对分析人员造成伤害,并且在一定程度上污染环境。Yuan 等^[26]经过比较研究,确定了微波辅助提取,以乙醇与水的混合溶剂为提取剂的提取方法,提取效率达到 85%,加标回收率在 91.1% ~ 94.5%。该样

品前处理方法可靠、有效,而且还应用到了水稻叶茎和根的砷形态提取,提取效率达 90.3%。但该方法需重复 3 次微波消解,最终将提取液合并,操作上较繁琐。

酶能够降解有机物,Sanz 等^[27]使用蛋白酶 XIV 和 α -淀粉酶对精米进行消解后再用探针式超声提取,最终提取效率超过 90%,并且避免了干扰物质的影响。但酶的作用通常对外在环境条件要求比较严格^[28],如温度和 pH 值,所以在方法的建立上应特别注意。

此外,有机溶剂和无机溶剂配合进行先后提取,有时能达到更好的提取效果。Mir 等^[29]分别用不同配比的甲醇和水、不同浓度的 HCl 溶液、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 以及人工胃液 9 种溶剂,超声辅助提取污染土上生长的植物中的砷,高效液相色谱与氢化物原子吸收光谱联用系统(HPLC-HG-AAS)测定,结果显示甲醇与水的混合溶液和 HCl 溶液分别对有机砷和无机砷具有良好的提取效率,所以该研究最终采用甲醇:水(1:1)和 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 先后连续提取植物中的砷形态,且提取效率是单纯采用甲醇水的 2 倍。Hovanec^[30]讨论了花生油中砷的提取方法,在降脂过程中为了尽可能减少砷的损失采用丙酮预处理,预处理之后采用乙二醇单丁醚:水(1:1)加热水浴提取,加标回收率在 40%~122%。这是有机溶剂之间的结合。Caruso 等^[31]分析苹果样品时,用甲醇:水(1:1)超声提取 6 h 后其提取效率为 72%~97%,若采用 α -淀粉酶浸泡过夜的预处理,则提取效率可提高到 81%~104%,又因为乙腈:水(40:60)代替甲醇溶液能得到更好的提取效率,故该研究最终采用了 α -淀粉酶浸泡过夜之后再乙腈:水(40:60)超声提取 6 h 的方法。这是酶和有机溶剂结合用来提取可食植物中砷的方法。

各种辅助手段在砷提取中尤为重要。Yuan 等^[26]在研究中发现,振荡提取用时长,且提取效率低,超声提取相比振荡提取缩短了时间,但要想得到较高的提取效率,仍需长达 6 h,而索氏提取需要的溶剂较多,最后还要经过很长时间的旋转蒸发,提取效率也不高。加速溶剂提取(又叫加压溶剂提取)要求实验人员设置合适的压力、温度、提取时间、溶剂组成这些参数,从而保证较高的提取效率,但 ASE 一般只适用于有机溶剂提取样品中的有机成分,且应用对象比较专一^[32]。微波消解是一种高效、快速的辅助手段,近年来被广泛应用于砷提取^[3,26,33-34]。

目前看来,用 1% HNO_3 微波辅助提取稻米中的砷形态只需 1 h,且 4 种形态砷的回收率可达 $(93 \pm 1)\%$ ^[3]。

目前,有关稻米中不同形态砷的研究较多,其提取技术相对成熟,本着高效且操作简单的原则, $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热辅助提取和 1% HNO_3 微波辅助提取是目前最优的两种方法;海产食品砷形态的提取技术起步较早,由于其砷形态主要为有机砷,所以通常用有机试剂提取,其中应用最广泛的方法是甲醇与水的混合物结合超声等各种辅助手段,方法较成熟;蔬菜、水果等可食植物中砷的提取所用方法较多、较杂,这是因为不同植物的内部成分往往差异较大,故针对不同植物样品中砷的提取方法研究必不可少。

对于可食植物中砷形态的研究,现阶段最大的不足在于没有各砷形态含量的标准物质。目前,解决该问题的方法通常有 3 种:第一是计算形态回收率或提取效率(% ,检测出的各砷形态之和/浓酸消解的砷总量 $\times 100$);第二是各形态的加标回收率(% ,检测出的各形态浓度/加入溶剂中的各砷形态浓度 $\times 100$);第三是选择与前人相同的标准物质分析并对比结果。以稻米为例,由于没有稻米砷形态的标准物质,不少研究选用来自美国的 SRM1568a 作为参考物质。表 2 显示了近年来使用 SRM1568a 标准物质进行砷形态研究的一系列结果。

从早期常用的 NaBH_4 还原结合光度法测定到现在广泛采用的各种联用技术,关于砷形态分离测定方法的研究报道及研究进展已经很多,在此本文将不再一一赘述。只是强调,分析仪器的检出限可能会对样品的分析结果造成一定影响,如大米标准物质 SRM1568a 经 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 加热提取后,采用高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用法(HPLC-ICP-MS)测定的结果中含有无机砷 $(92 \pm 4) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,包括 As(III)和 As(V),DMA $(174 \pm 9) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,还有少量 MMA $(8 \pm 2) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,回收率 93%^[15];而相同提取条件下采用高效液相色谱与氢化物原子荧光光谱联用法(HPLC-HG-AFS)的分析结果只有 As(III)和 DMA 两种砷形态,分别是 $(77 \pm 2) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $(163 \pm 32) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,砷形态回收率为 83%^[25],而原因就是采用 HPLC-HG-AFS 分析的样品经过一定程度的稀释,使 As(V)和 MMA 低于仪器的检出限而造成无法检出。所以在评价样品时,必须将仪器的检出限与样品处理方法结合考虑,对分析结果进行科学的讨论。

表 2 稻米标准物质 SRM1568a 砷形态提取结果
Tab.2 Arsenic speciation extraction recoveries of NIST certified reference material SRM1568a

提取方法 Extraction method	砷全量 * Total As (ng · g ⁻¹)	As(Ⅲ) (ng · g ⁻¹)	As(Ⅴ) (ng · g ⁻¹)	DMA (ng · g ⁻¹)	MMA (ng · g ⁻¹)	砷形态之和 Sum of As speciations (ng · g ⁻¹)	回收率 * * Recovery rate (%)	参考文献 Reference
2 mol · L ⁻¹ 三氟乙酸,100 ℃ 6 h	280±20		92±4	174±9	8±2	274	94	[15]
2 mol · L ⁻¹ TFA,100 ℃ 6 h								
α-淀粉酶,手摇	290±30	67±4	39±3	158±5	13±2	277±6	96	[8]
α-amylase, shaken by hand								
α-淀粉酶,XIV 蛋白酶超声	286±6	68±4	20±2	135±4	8±1	231±6	82	[27]
α-amylase, protease XIV, sonication								
酶(蛋白酶,胰酶)	290±30		101±7	148±7.3	11±1	260	89±5	[35]
Enzymatic digest (pepsin and pancreatin)								
2 mol · L ⁻¹ 三氟乙酸,100 ℃ 6 h	290±30		87±8	168±8.7	12±0	267	92±5	[35]
2 mol · L ⁻¹ TFA,100 ℃ 6 h								
2 mol · L ⁻¹ 三氟乙酸,100 ℃ 6 h	290±30		77±2	163±32	0	240	83	[25]
2 mol · L ⁻¹ TFA,100 ℃ 6 h								
1 mol · L ⁻¹ H ₃ PO ₄ ,超声提取	290±20	69±1	33±1	155±2	9±0	267±3	92±1	[17]
1 mol · L ⁻¹ H ₃ PO ₄ ,sonication								
甲醇:水,微波辅助	290	52	44	173	12	281	97	[36]
Methanol:water, microwave assisted								
1% HNO ₃ ,微波辅助	290	67±5	36 ±1	162±1	5±1	271±3	93±1	[3]
1% HNO ₃ ,microwave assisted								
各方法平均值(平均值±标准误)	288±1		95±3	160±4	9±1	263±6	91±2	
Means of each method (mean±SE)								

* 标准物质参考值 Value of certified reference material; * * 回收率(%)=(4种砷形态的加和/砷全量)×100 Recovery rate(%)=(Sum of four As speciations/total As)×100.

3 不同种类可食植物中砷的形态

依据是否含有砷糖,本文将可食植物分为两类进行讨论,一类是陆生植物,包括蔬菜、水果、稻米、茶及草药等,其主要砷形态为 As(Ⅲ)、As(Ⅴ)、DMA 和 MMA. 另一类指食用藻类,其主要砷形态是 As(Ⅲ)、As(Ⅴ)、DMA 和砷糖.

3.1 蔬菜类

人们普遍认为现代健康饮食的宗旨之一是每天食用新鲜蔬菜.可见,研究蔬菜中的砷形态具有十分重要的意义. Muoz 等^[37]分析了智利 16 种蔬菜的可食部分,结果发现蔬菜的总砷含量符合当地标准(谷类和豆类植物 0.5 mg · kg⁻¹,其他蔬菜 1.0 mg · kg⁻¹),这 16 种蔬菜无机砷的含量范围在 0.008 ~ 0.613 mg · kg⁻¹,计算每日摄入量后,部分蔬菜有可能超过 WHO 规定的人体摄入无机砷的日允许摄入量(tolerable daily intake,TDI) 0.146 mg · d⁻¹(以人体体质量 68 kg 计)^[38].该研究的智利蔬菜中除 1 个菠菜样品的总砷含量达到 0.604 mg · kg⁻¹以外,其他样品均符合我国对蔬菜中总砷限量标准(0.5 mg · kg⁻¹)的规定^[39];而无机砷方面约有一半样品超出我国对蔬菜中无机砷的限量标准(0.05 mg · kg⁻¹)^[40]. Vela 等^[23]运用离子色谱与电感耦合等离子体质谱联用法(IC-ICP-MS)测定冷冻干燥的红薯、胡萝卜、四季豆,结果未发现有机态砷. Signes-

Pastor 等^[41]分析了西孟加拉国胡萝卜等 9 种常见蔬菜、4 种常见调味植物中砷的赋存形态,结果发现 MMA 和 As(Ⅲ)是蔬菜和调味品中砷的主要形态,其中除调味品葫芦巴种子中无机砷只有总砷的 18% 外,其余调味品和蔬菜中无机砷占总砷的比例都在 50% 以上.由此可见,虽然部分蔬菜中的无机砷与 MMA 含量相当^[41],但大部分蔬菜中的砷仍以无机砷为主,所以即使总砷不超标,无机砷作为主要砷形态仍有可能造成砷在人体内的慢性积累.

3.2 稻米

检索粮食作物砷形态的文献资料发现,鲜有关于小麦主要砷形态为无机砷的文献报道,这可能是由于小麦等农作物对砷的吸收能力较低,对人体的健康风险较小^[42].已有研究表明,与其他粮食作物相比,水稻从土壤中吸收砷的能力较强^[43-44]. Schoof 等^[43]证实,与食用藻类及其他谷类、果汁相比,稻米中无机砷的含量最高,也有文献称孟加拉国等地区的居民所遭受的砷毒害并非来自含有高含量砷的饮用水,而是来自对人体无机砷贡献率最大的稻米^[45],可见研究水稻中的砷意义重大.已有研究表明,稻米砷形态主要包括 As(Ⅲ)、As(Ⅴ)和 DMA^[3,24,34,41,46-47],且 3 种砷形态比例范围随各种因素的不同而变化.

Williams 等^[2,24]调查研究了来自不同国家不同品种稻米中的砷形态,其中主要的砷形态为 As

(III)、DMA 和 As(V), 欧洲、孟加拉国和印度稻米无机砷占总砷的比例分别为 $(64 \pm 1)\%$ 、 $(80 \pm 3)\%$ 和 $(81 \pm 4)\%$, 而美国稻米的无机砷却只有总砷的 $(42 \pm 5)\%$. Zavala 等^[48] 试验结果显示, 美国稻米砷形态主要是 DMA, 而欧洲和中国的稻米的砷形态主要是无机砷. Williams 等^[24] 通过盆栽试验的结果推断, 稻米砷形态地区的差异性可能是由于稻米品种的变化即基因型不同造成的. Liu 等^[46] 研究了不同基因型水稻的稻米砷形态, 结果表明, 来自中国的 6 种基因型水稻产出的稻米无机砷占总砷的比例均在 50% 左右, DMA 则均接近 50%, 而 MMA 含量很低或未检出, 更重要的是该文章的结果显示基因型的改变有可能使水稻中 DMA 比例增加. Meharg 等^[49] 分析来自中国、美国和孟加拉国的糙米和精米(来源包括农田、市场和盆栽试验)后同样发现, 稻米砷的主要形态为无机砷和 DMA, 而且糙米比精米含有更高的无机砷比例, 且 DMA 随砷总量的增高而增大. 这表明不同处理形式的稻米的砷形态比例不同. Smith 等^[47] 则证明了生长在室内大米的主要砷形态为 As(III) 和 DMA, 即稻米的生长环境同样影响着砷形态的分配. 鉴于无机砷的高毒性, 力求探明造成世界范围内稻米中无机砷和 DMA 分配比例差异的原因, 进而找出降低无机砷比例、增加 DMA 比例的科学有效的方法, 这正是现阶段该领域研究的热点之一.

Zhu 等^[3] 在对中国东北和南方的矿区与非矿区稻米中砷含量的调查研究中发现, 85% 非矿区的稻米的总砷含量低于限量标准 $150 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ ^[40], 而矿区稻米砷总量可达 $624 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 进而对其砷形态进行分析发现无机砷仍是该地区稻米砷的主要形态, 而且部分样品无机砷含量达到了 $300 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 对人体健康存在较大风险. 不仅如此, 随着对稻米砷形态研究的不断深入, 稻米的一些副产品中砷的赋存形态也受到关注. 米糠是制作精米时的副产品, 它通常包括种皮、糊粉层、胚和胚乳. 在日本等一些国家, 米糠是烹饪过程使用的主要成分之一, 鉴于米糠的营养丰富、纤维素含量高, 已有大量的人群将其作为儿童营养食品^[45]. 然而研究结果显示, 米糠砷形态中无机砷含量较高, 其次含有少量 DMA^[50-51]. 因此, 以稻米为主食的东南亚地区, 通过食用稻米以及用稻米深加工的食品而摄入的无机砷对人体尤其是婴儿的健康风险不容忽视.

3.3 茶和中草药

茶是中国的特色饮品之一, 中草药是中国传统

药物之一, 饮茶和服用中草药已逐渐在世界范围内趋于流行, 而近年二者砷含量的超标问题一直是国际上关注的焦点, 所以研究其砷的赋存形态及其对人体的健康风险具有重要意义.

目前, 关于茶叶与茶水中的砷形态研究并不多. 王亮等^[52] 通过加热浸泡茶叶的试验发现茶叶中砷的溶出率很低, 仅有 11.3%. Yuan 等^[33] 对茶叶样品进行去离子水加热浸泡处理, 用乙醇和水(1:1)微波辅助提取, 高效液相色谱与氢化物原子荧光光谱联用技术(HPLC-HG-AFS)分析茶叶及茶水中的砷形态, 结果显示, 茶叶经水浸泡后, 与茶叶相比, 茶水的砷含量呈明显降低趋势, 但茶水中大部分是 As(V), 部分样品中可以检测到 As(III)、DMA 和 MMA, 41 个样品中有 30 个样品只含无机砷, 另外 11 个样品中有 8 个样品无机砷比例高于 60%; 而未浸泡茶叶中主要砷形态为 DMA 和 MMA.

李巧等^[53] 的试验结果表明, 黄芩中存在 As(III)、As(V)、DMA 和 MMA 4 种砷形态, 其中无机砷为主, 其占总砷的比例在 74.1% ~ 82.2%. 云南民族中草药毛喉鞘蕊花中 As(III)、As(V)、DMA 和 MMA 占总砷的比例分别为 38.7%、29.0%、6.5% 和 16.1%; 而云南鬼针草中该 4 种砷形态占总砷的比例分别为 46.9%、34.7%、4.1% 和 8.2%^[52, 54]. 柳晓娟等^[55] 研究结果显示, 市场销售的云南地产三七饮片砷含量最高可达 $4.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 是国家标准($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的 2 倍, 且对人体健康具有一定风险, 后期分析了 13 种河北地产中草药的砷形态, 结果发现无机砷占总砷的比例均达到 80% 以上. 另外, 有关试验结果显示去离子水加热提取中草药中的砷, 提取效率在 0 ~ 55.9%, 表明经传统中医炮制后砷含量可大大降低. 不同于茶叶, 炮制前后的中草药和药汤中的砷形态分布并无明显变化, 仍以 As(III) 和 As(V) 为主, 只有部分样品检测出少量的 DMA 和 MMA^[56]. 所以, 煎煮后中草药中无机砷的健康风险不容忽视.

3.4 食用藻类

海洋生物体内存在多种不同的无机砷和有机砷^[57]. 在食用藻类中, 砷的形态一般只包括 As(III)、As(V)、DMA 和砷糖, 其中砷糖是主要砷形态^[12].

由于海产品对砷有更高的富集能力, 使其所含砷浓度较高, 其中部分食用藻类中砷含量高达 $152 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[58]. 自 1969 年 Lunde 首次阐明海洋生物中的砷大部分为低毒或无毒的有机砷以来, 该结论

已不断地被证实^[18]. 现阶段人们关注的重点已转向食用藻类中无机砷形态的分布规律及变化. Almela 等^[12]的研究结果证明, 来自西班牙的 3 种食用海藻均含有砷糖, 其中两种只检测出砷糖和 DMA 两种有机砷形态, 而对于 *Hizikia fusiforme*, 无论是生制样品, 还是经过烹制或浸泡的样品, 除砷糖和 DMA 外, 还检测出大量的 As(V), 且 As(V) 的比例基本超过总砷的 50%. 此外, Ichikawa 等^[59]分析了分别来自中国、韩国和日本的 *Hizikia fusiforme* 样品, 其中中国样品砷形态包括 As(V)、DMA 和砷糖, 日本样品和韩国部分样品还含有少量的 As(III), 且其 As(III) 占总砷的 30% 以下, 而所有样品大部分为 As(V), 且占总砷的 50% 以上, As(III) 均未超过 30%, DMA 和砷糖均未超过 5%. 鉴于 *Hizikia fusiforme* 无机砷含量较高, 在 2004 年 7 月, 英国食品标准委员会(FSA)建议人们不要食用这种藻类. 可见, 可食藻类中砷形态与植物种类有密切关系, 是否与地域有关还有待进一步研究.

Laparra 等^[60]分别测定了烹制前后西班牙市场的 *Hizikia fusiforme* 棕色海带中无机砷含量, 结果显示烹制前 3 组样品无机砷占总砷的百分比分别为 61.9%、65.3% 和 69.7%, 而烹制后的无机砷比例分别为 47.2%、56.7% 和 53.3%, 无机砷比例有所降低. Ichikawa 等^[59]还利用日本烹制海带的方法将 *Hizikia fusiforme* 产品进行处理, 结果表明约有 75.0%~81.4% 的 As(V) 可被水浸提出来. 可见, 烹制及浸泡过程可以降低海带中砷的毒性, 这是去除该类海产品中无机砷的有效手段.

虽然在各种海生动物中都发现了高含量的砷甜菜碱(AsB), 但其在食用藻类中却鲜有发现. Edmonds 等^[61]推测 AsB 的来源与砷糖有关, 认为在海底暗处的厌氧条件下, 藻类中的砷糖可分解为二甲氧基砷乙醇(Dimethloxarsylethanol), 二甲氧基砷乙醇被还原甲基化生成砷胆碱(AsC), AsC 进一步被氧化成 AsB, 或者是二甲氧基砷乙醇先被氧化为二甲基氧砷乙酸, 二甲基氧砷乙酸再被还原甲基化生成 AsB, 但目前这种推测缺少足够的试验数据来证实. Nischwitz 等^[13]考虑到高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用技术(HPLC-ICP-MS)能把提取溶液中所有砷形态都检测出来, 高含量的砷糖可能掩盖了微量的 AsB 的色谱峰, 所以该研究采用高效液相色谱与在可选择反应控制模式下的电喷雾串联质谱法联用技术(HPLC-ES-SRM)检测新鲜海藻和市场上销售的藻类产品, 结果首次发现了 AsB 的存

在. 其中, 干燥研磨后的粉末样品中检测到的 AsB 含量极低, 未超过总砷的 1.5%, 而有一种绿藻 AsB 达到总砷的 7.5%. 这说明 AsB 可能是砷糖代谢的中间产物, 但目前仍缺乏足够的试验数据支持. Hirata 等^[62]在试验中用高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用技术(HPLC-ICP-MS)检测出 AsB, 而在此之前采用离子色谱与电感耦合等离子体质谱联用法(IC-ICP-MS)测定的结果中并没有 AsB. 因此, 借助先进的分析仪器系统研究不同地区不同种类的食用藻类, 并鉴定砷形态代谢及转化的中间产物, 应是未来该领域的研究方向之一.

4 研究展望

综上所述, 本文认为在该研究领域内还存在着一些问题亟待解决: 1) 标准物质: 不管是砷还是其他重金属, 由于缺少所参照的标准物质, 在形态分析时都只能通过对比、反复试验来验证方法的精确度与准确性; 2) 区域稻米砷形态差异: 目前的研究结果显示东南亚地区稻米主要的砷形态为无机砷, 而美国稻米砷形态却以 DMA 为主, 该问题的解决无疑能为改善世界稻米的安全性提供依据, 但真正原因有待深入研究. 此外, 结合土壤及土壤-植物体系中砷的形态转化及迁移机制从而使植物体内的砷转化为低毒或无毒的形态应该是今后该领域的研究重点之一^[63-64]. 因此, 更深入地研究可食植物中砷的形态与其毒性机制的关系, 并开展标准物质研究的工作意义重大.

参考文献

- [1] Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: A review. *Talanta*, 2002, **58**: 201-235
- [2] Williams PN, Islam MR, Adomako EE, et al. Increase in rice grain arsenic for regions of Bangladesh irrigating paddies with elevated arsenic in groundwaters. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**: 4903-4908
- [3] Zhu YG, Sun GX, Lei M, et al. High percentage inorganic arsenic content of mining impacted and nonimpacted Chinese rice. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**: 5008-5013
- [4] International Agency for Research on Cancer. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, Supplement 7. Lyon, France: IARC Press, 1987
- [5] National Research Council. Arsenic in Drinking Water-2001 Update. Washington D. C.: National Academy Press, 2001
- [6] Zhang R-W (张壬午), Chen S-S (陈寿山). Chemicals and Carcinogenesis. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1981 (in Chinese)

- [7] Francesconi KA, Kuehnelt D. Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000–2003. *The Analyst*, 2004, **129**: 373–395
- [8] Meharg AA, Hartley-Whitaker J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, 2002, **154**: 29–43
- [9] Zhang L (张 磊). Stability studies of different arsenic speciations and sample preparation on analysis of arsenic speciation. *Foreign Medical Sciences (Section Hygiene) (国外医学·卫生学分册)*, 2007, **34**(4): 238–244 (in Chinese)
- [10] Gebel T. Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. *Toxicology*, 2000, **144**: 155–162
- [11] Tompson DJ. A chemical hypothesis for arsenic methylation in mammals. *Chemico-Biological Interactions*, 1993, **88**: 675–682
- [12] Almela C, Laparra JM, Vlez D, *et al.* Arsenosugars in raw and cooked edible seaweed: Characterization and bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, **53**: 7344–7351
- [13] Nischwitz V, Pergantis SA. First report on the detection and quantification of arsenobetaine in extracts of marine algae using HPLC-ES-MS/MS. *The Analyst*, 2005, **130**: 1348–1350
- [14] Schoof RA, Yost LJ, Crecelius E, *et al.* Dietary arsenic intake in Taiwanese districts with elevated arsenic in drinking water. *Human and Ecological Risk Assessment*, 1998, **4**: 117–135
- [15] Heitkemper DT, Vela PN, Stewart KR, *et al.* Determination of total and speciated arsenic in rice by ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, **16**: 299–306
- [16] Bohari Y, Lobos G, Pinochet H, *et al.* Speciation of arsenic in plants by HPLC-HG-AFS: Extraction optimisation on CRM materials and application to cultivated samples. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002, **4**: 596–602
- [17] Reyes MNM, Cervera ML, Campos RC, *et al.* Determination of arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in cereals by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Spectrochimica Acta, Part B*, 2007, **16**: 2078–2082
- [18] Castlehouse H, Smith C, Raab A, *et al.* Biotransformation and accumulation of arsenic in soil amended with seaweed. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**: 951–957
- [19] Wei C, Li W, Zhang C, *et al.* Safety evaluation of organoarsenic species in edible porphyra from the China sea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, **51**: 5176–5182
- [20] Abedin MJ, Cresser MS, Meharg AA, *et al.* Arsenic accumulation and metabolism in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science & Technology*, 2002, **36**: 962–968
- [21] Kuehnelt D, Irgolic KJ, Goessler W. Comparison of three methods for the extraction of arsenic compounds from the NRCC standard reference material DORM-2 and the brown alga *Hijiki fuziforme*. *Applied Organometallic Chemistry*, 2001, **15**: 445–456
- [22] Kannamkumarath SS, Wrbel K, Caruso JA. Speciation of arsenic in different types of nuts by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, **52**: 1458–1463
- [23] Vela NP, Heitkemper DT. Total arsenic determination and speciation in infant food products by ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 2004, **87**: 244–252
- [24] Williams PN, Price AH, Raab A, *et al.* Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**: 5531–5540
- [25] Smith NM, Lee R, Heitkemper DT, *et al.* Inorganic arsenic in cooked rice and vegetables from Bangladeshi households. *Science of the Total Environment*, 2006, **370**: 294–301
- [26] Yuan CG, Jiang GB, He B. Evaluation of the extraction methods for arsenic speciation in rice straw, *Oryza sativa* L., and analysis by HPLC-HG-AFS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2005, **20**: 103–110
- [27] Sanz E, Muñoz-Olivas R, Cámara C. A rapid and novel alternative to conventional sample treatment for arsenic speciation in rice using enzymatic ultrasonic probe. *Analytica Chimica Acta*, 2005, **535**: 227–235
- [28] Capelo JL, Ximénez-Embún P, Madrid-Albarrán Y, *et al.* Enzymatic probe sonication: Enhancement of protease-catalyzed hydrolysis of selenium bound to proteins in yeast. *Analytical Chemistry*, 2004, **76**: 233–237
- [29] Mir KA, Rutter A, Koch I, *et al.* Extraction and speciation of arsenic in plants grown on arsenic contaminated soils. *Talanta*, 2007, **72**: 1507–1518
- [30] Hovanec BM. Arsenic speciation in commercially available peanut butter spread by IC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2004, **19**: 1141–1144
- [31] Caruso JA, Heitkemper DT, B'Hymer C. An evaluation of extraction techniques for arsenic species from freeze-dried apple samples. *The Analyst*, 2001, **126**: 136–140
- [32] Gallagher PA, Shoemaker JA, Wei XY, *et al.* Extraction and detection of arsenicals in seaweed via accelerated solvent extraction with ion chromatographic separation and ICP-MS detection. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 2001, **369**: 71–80
- [33] Yuan CG, Gao E, He B, *et al.* Arsenic species and leaching characters in tea (*Camellia sinensis*). *Food and Chemical Toxicology*, 2007, **45**: 2381–2389
- [34] Raab A, Baskaran C, Feldmann J, *et al.* Cooking rice in a high water to rice ratio reduces inorganic arsenic content. *Journal of Environmental Monitoring*, 2009, **11**: 41–44
- [35] Ackerman AH, Creed PA, Parks AN, *et al.* Comparison of a chemical and enzymatic extraction of arsenic from rice and an assessment of the arsenic absorption from contaminated water by cooked rice. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**: 5241–5246
- [36] Narukawa T, Inagaki K, Kuroiwa T, *et al.* The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, 2008, **77**: 427–432
- [37] Muoz O, Diaz OP, Leyton I, *et al.* Vegetables collected in the cultivated Andean area of northern Chile: Total and inorganic arsenic contents in raw vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, **50**: 642

- 647
- [38] World Health Organization. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 33rd Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 759. Geneva, Switzerland; WHO, 1989
 - [39] Ministry of Health of The People's Republic of China (中华人民共和国卫生部). Tolerance Limit of Arsenic in Foods (GB4810). Beijing: China Standards Press (in Chinese)
 - [40] Ministry of Health of The People's Republic of China (中华人民共和国卫生部). Maximum Levels of Contaminants in Foods (GB 2762-2005). Beijing: China Standards Press (in Chinese)
 - [41] Signes-Pastor AJ, Mitra K, Sarkhel S, *et al.* Arsenic speciation in food and estimation of the dietary intake of inorganic arsenic in a rural village of West Bengal, India. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, **56**: 9469-9474
 - [42] Wang Y-Z (王远征), Teng M (滕 曼), Du X (杜心), *et al.* Concentration and speciation of arsenic in rice and grains and wheat flour from Beijing market. *Environmental Chemistry (环境化学)*, 2007, **26**(6): 850-853 (in Chinese)
 - [43] Schoof RA, Yost LJ, Eickhoff J, *et al.* Market basket survey of inorganic arsenic in food. *Food and Chemical Toxicology*, 1999, **37**: 836-839
 - [44] Williams PN, Villada A, Deacon C, *et al.* Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41**: 6854-6859
 - [45] Sun GX, Williams PN, Zhu YG, *et al.* Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. *Environment International*, 2009, **35**: 473-475
 - [46] Liu WJ, Zhu YG, Hu Y, *et al.* Arsenic sequestration in iron plaque, its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**: 5730-5736
 - [47] Smith E, Juhasz AL, Weber J, *et al.* Arsenic uptake and speciation in rice plants grown under greenhouse conditions with arsenic contaminated irrigation water. *Science of the Total Environment*, 2008, **392**: 277-283
 - [48] Zavala YJ, Gerads R, Gürleyük H, *et al.* Arsenic in Rice. II. Arsenic speciation in USA grain and implications for human health. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**: 3861-3866
 - [49] Meharg AA, Lombi E, Williams PN, *et al.* Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**: 1051-1057
 - [50] Meharg AA, Deacon C, Campbell RCJ, *et al.* Inorganic arsenic levels in rice milk exceed EU and US drinking water standards. *Journal of Environmental Monitoring*, 2008, **10**: 428-431
 - [51] Sun GX, Williams PN, Carey AM, *et al.* Inorganic arsenic in rice bran and its products are an order of magnitude higher than in bulk grain. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**: 7542-7546
 - [52] Wang L (王 亮), Wang G-C (王光灿), Zhu G-H (朱光辉), *et al.* Analysis on trace arsenic speciation in *Coleus forskohli* Brig. of Yunnan. *Journal of Chinese Medicinal Materials (中药材)*, 1999, **22**(12): 633-634 (in Chinese)
 - [53] Li Q (李 巧), Su W-W (苏薇薇). Analysis on arsenic speciation in *Radix scutellariae*. *Journal of Chinese Medicinal Materials (中药材)*, 1996, **19**(8): 412-413 (in Chinese)
 - [54] Wang L (王 亮), Chen L-L (陈莉莉), Zhu G-H (朱光辉), *et al.* Analysis on trace arsenic speciation in *Bidens bipinnata* L. of Yunnan. *Studies of Trace Elements and Health (微量元素与健康研究)*, 2000, **17**(1): 44-45 (in Chinese)
 - [55] Liu X-J (柳晓娟), Lin A-J (林爱军), Sun G-X (孙国新), *et al.* The source of arsenic in *Panax notoginseng* and its preliminary health risk assessment. *Environmental Chemistry (环境化学)*, 2009, **28**(5): 770-771 (in Chinese)
 - [56] Yuan C-G (苑春刚). Speciation Analysis of Arsenic in Various Samples and Heavy Metals in Sediment. PhD Thesis. Beijing: Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2005 (in Chinese)
 - [57] Borak J, Hosgood HD. Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2007, **47**: 204-212
 - [58] Munilla MA, Gomez-Pinilla I, Rodenas S, *et al.* Determination of metals in seaweeds used as food by inductively coupled plasma atomic-emission spectrometry. *Analisis*, 1995, **23**: 463-466
 - [59] Ichikawa S, Kamoshida M, Hanaoka K, *et al.* Decrease of arsenic in edible brown algae *Hijikia fusiforme* by the cooking process. *Applied Organometallic Chemistry*, 2006, **20**: 585-590
 - [60] Laparra JM, Vélez D, Montoro R, *et al.* Bioaccessibility of inorganic arsenic species in raw and cooked *Hizikia fusiforme* seaweed. *Applied Organometallic Chemistry*, 2004, **18**: 662-669
 - [61] Edmonds JS, Francesconi KA, Hansen JA. Dimethyloxarsylethanol from anaerobic decomposition of brown kelp *Ecklonia radiata*: A likely precursor of arsenobetaine in marine fauna. *Experientia*, 1982, **38**: 643-644
 - [62] Hirata S, Toshimitsu H. Determination of arsenic species and arsenosugars in marine samples by HPLC-ICP-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2005, **383**: 454-460
 - [63] He Q-H (和秋红), Zeng X-B (曾希柏). Form transformation of arsenic in soil and corresponding analyzing methods. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 2008, **19**(12): 2763-2768 (in Chinese)
 - [64] Miao J-Y (苗金燕), He F (何 峰), Wei S-Q (魏世强), *et al.* Forms and bio-availabilities of exogenous arsenic in purple soils. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 2005, **16**(5): 899-902 (in Chinese)

作者简介 柳晓娟,女,1984年生,硕士研究生.主要从事中草药中砷的赋存形态及其生物可给性研究,发表论文1篇.
E-mail: Shiyujunxjl@163.com

责任编辑 肖 红