

不同区域与品种的海带中砷富集特征的差异

舒本胜^{1,2}, 王飞久², 尚德荣², 宁劲松², 孙修涛²,
赵艳芳², 汪文俊², 李涛², 翟毓秀^{2*}

(1. 大连海洋大学食品工程学院, 辽宁 大连 116023;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 通过分析不同养殖海域、不同品种海带中无机砷和总砷含量在养殖期间的变化, 研究海带中总砷及无机砷的富集规律。结果显示, 在生长期海带对总砷的富集呈增长趋势, 而无机砷含量则逐渐降低, 其占总砷的比例由3月份1.36%~1.47%下降到7月份的0.41%~0.57%; 同一海域、不同品种的海带对总砷和无机砷的富集具有差异性; 同时期在不同养殖海域采收的同品种海带总砷和无机砷含量差异显著。基于监测数据对海带中的无机砷进行分析, 所有海带样品中无机砷含量远低于现行食品卫生标准中的限量要求, 不对食用安全性造成影响。

关键词: 海带; 总砷; 无机砷; 富集规律

中图分类号: Q 949; S 917

文献标志码: A

海带是我国重要的海藻养殖品种, 年产量达到80多万吨, 广泛地用于化工、食用等方面, 是我国沿海地区渔业经济的重要组成部分。2006年初广西的阿一波紫菜事件对产业发展带来严重影响, 也引起全社会的广泛关注。

海藻对海水中的砷具有富集特性, 使其砷含量很高, 被称为海洋环境中的“砷库”^[1], 对食用安全带来风险。海藻对砷的富集特性与自身结构有关, 由于它的细胞壁是由纤维素、果胶质、藻酸铵岩藻多糖和聚半乳糖硫酸酯等多层微纤维组成, 形成多孔网状结构, 带有一定的负电荷, 且有较大的表面积与黏性^[2], 而其细胞膜是具有高度选择性的半透膜, 决定了藻类对高价离子的富集倍数明显高于一般离子, 有研究表明, 海带对砷的富集率可达到10 357倍^[3]。藻类对元素的富集途径有物理吸附、生物吸附、表面沉积、主动运输与被动扩散等。其中生物吸附和主动运输为生物富集的主要途径, 分别占了总富集量的近80%和20%^[4]。影响藻类生物富集的因素主要有pH、温度、光照、藻种、培养

时间、离子种类及浓度、藻类与离子接触的时间、竞争离子、培养基组成等^[5]。

我国海域辽阔, 海岸线长, 藻类资源丰富, 气候也有很大差异, 因此不同产地、不同季节以及不同气候等条件下海藻中砷的变化可能存在差异, 为确保食用安全有必要进行相关研究。

1 材料与方 法

1.1 仪器与设备

原子荧光形态分析仪(SA-10, 北京吉天仪器有限公司)、双道氢化物发生原子荧光光度计AFS-2201(北京海光仪器厂)、恒温水浴锅。玻璃仪器使用前经15%硝酸浸泡24 h。

1.2 实验试剂

盐酸溶液(1+1)、盐酸溶液(7%)、氢氧化钾溶液(0.5%)、硼氢化钾溶液(1.5%)、砷标准储备液(1 mg/mL, 购于国家标准物质中心), 硫脲溶液(50 g/L)、磷酸氢二铵(15 mmol/L)等。

实验用试剂除特殊说明外均为优级纯; 实验用水为去离子水。

收稿日期: 2011-03-23

修回日期: 2011-06-19

资助项目: 国家科技支撑计划(2009BADB7B06, 2007BAD62B01, 2006BAD01A13); 农业行业专项(200903030)

通讯作者: 翟毓秀, E-mail: zhaiyx@ysfri.ac.cn

1.3 实验样品

在大连养殖海域采集 3 个品种海带(A、B、C),采集时间在 3 至 7 月份,分别每月取样一次,以上每个品种均取 3 个样品,研究不同品种及不同养殖时间的砷变化规律;分别在 2、3 月份采集福建、大连养殖海域 A,每个养殖海域采集 3 个样品,研究不同海域同品种海带砷的富集规律及其差异。

样品采集后,烘干,粉碎过 60 目筛,备用。

1.4 测定方法

总砷按照 GB/T 5009.11-2003《食品中总砷及无机砷的测定》^[6]中第一法测定。

无机砷测定采用高效液相色谱—原子荧光联用技术测定法^[7]。

测定步骤 称取干样 1.000 g 于 25 mL 具塞刻度试管中,加 10 mL 1.2 mol/L HCl 旋涡混匀,70 °C 水浴下恒温震荡 1 h,冷却后加 10 mL 水恒温震荡 0.5 h,4 000 r/min 下离心 15 min,取 1.0 mL 上清液加入 0.2 mL H₂O₂ 和 0.8 mL 水,混匀后在 70 °C 水浴下恒温保持 20 min,冷却后用 0.45 μm 滤膜过滤,取 100 μL 进样测定,与标准曲线对照,计算测定结果。同时做空白试验。

仪器条件 无机砷测定仪器条件见表 1。

表 1 测定无机砷的 HPLC-HG-AFS 条件
Tab.1 Instrument conditions for determination of inorganic arsenic with HPLC-HG-AFS

项目 item	条件 experiment condition
色谱柱 column	Hamilton PRP-X100 (250 mm × 4.1 mm id, 10 μm)
保护柱 guard column	Hamilton PRP-X100 (250 mm 4.1 mm id, 10)
流动相 mobile phase	15 mmol/L (NH ₄) ₂ HPO ₄ , pH 6.0
进样体积 injection volume	100 μL
还原剂 reductant	1.5% KBH ₄ + 0.5% KOH
负高压 PMT voltage	300 V
载气氩气 Ar	400 mL/min
载流 carrier solution	7% HCl
灯电流 HCl current	100 mA
屏蔽气 shield gas	600 mL/min

计算方法 测定结果按照下式计算:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 2}{m \times 1000}$$

式中, X 为样品中待测物含量(mg/kg), C 为待测液中无机砷质量浓度(ng/mL), C₀ 为空白中无机砷质量浓度(ng/mL), m 为称样量(g), V 为测定

液体总体积(20 mL), 2 为稀释倍数。本实验结果数据均为以干基计算。数据用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 同海域品种间的砷变化规律

总砷富集规律 从图 1 中可以看出,在 3—7 月,3 个品种海带随着生长时间的延长,总砷含量逐渐增加,由 3 月份的 30.55 ~ 39.41 mg/kg 增加到 7 月份的 40.21 ~ 54.99 mg/kg,但每个品种在不同的月份增长速度不同,品种 A 总砷含量在 3 月份增长最快,而品种 B 和 C 总砷含量均在 5 月份增长最快,季节的变化影响海藻本身特定的生物周期,因此也影响砷的含量^[8]。这可能是由于不同品种海藻最适生长温度不同,在最适生长温度下,物质能量代谢旺盛,对海水中砷的富集强度增大,总砷含量增加较快。

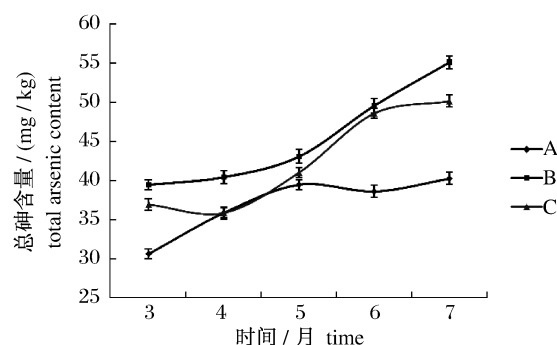


图 1 3—7 月 3 个品种海带总砷含量变化图

Fig.1 The variation of total arsenic contents in three varieties of kelps from March to July

无机砷富集规律 从图 2 中可以看出,在 3—7 月,3 个品种的海带随着生长时间的延长,无机砷含量逐渐减少,由 3 月份的 0.534 9 ~ 0.566 8 mg/kg 减少到 7 月份的 0.165 0 ~ 0.286 8 mg/kg。由于海水和沉积物中的砷质量浓度比较稳定,总砷含量为 1.0 ~ 4.2 μg/L,平均为 2.0 μg/L,且主要以 As^V 形态存在,只有少量的 As^{III}、一甲基砷(MMA)和二甲基砷(DMA)^[9-10],可能是无机砷随着藻类的生长与有机物结合转化为有机砷。

不同品种、不同生长周期无机砷占总砷比例的变化 海带中的砷主要以有机砷和无机砷形式存在,两者之和即总砷含量。本实验有机砷含量通过测定总砷含量减无机砷含量获得。从图 3 中可以看,3—7 月 3 个品种海带中的砷主要以有机砷

形式存在,占到总砷 98.14% 以上。无机砷含量不足 2%,有机砷比例逐渐增加,无机砷比例逐渐减少。到 7 月份无机砷所占比例在 0.57% 以下。

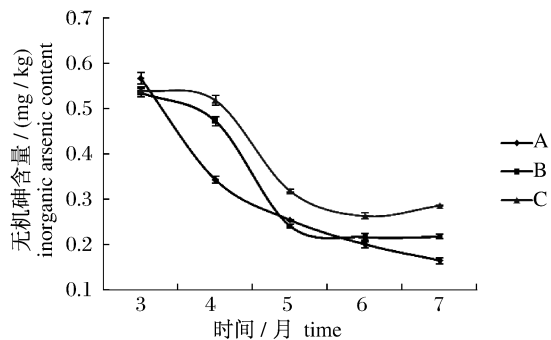


图 2 3—7 月 3 个品种海带无机砷含量变化图
Fig. 2 The variation of inorganic arsenic contents in three varieties of kelps from March to July

从结果来看,随养殖时间增加,无机砷占总砷比例逐渐减少,这可能是由于后期海带表面积占比减少,而无机砷主要存在于叶面所致;同时也可

能后期生长的海带中无机砷与海藻中的糖类结合逐渐转化为砷糖,致使无机砷占比减少,但具体原因还需要从海带的植物生理学方面进行进一步研究。

2.2 同品种海带在不同海域砷的富集差异

由于 A 品种海带在福建比在大连采收期早,采集 2、3 月份福建和大连海域 A 品种海带进行同月份比较,总砷和无机砷测定值见表 2。

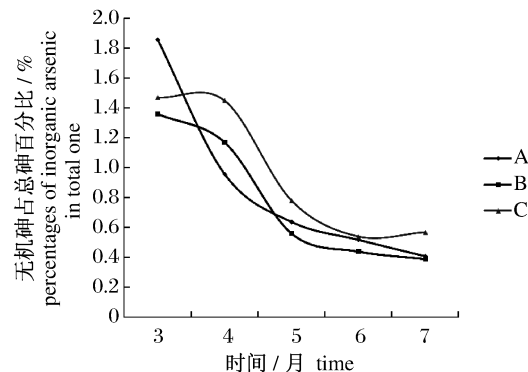


图 3 不同采收时间海带中无机砷占总砷的百分比
Fig. 3 The percentages of inorganic arsenic in total one at different picking time of kelps

表 2 不同海域海带总砷和无机砷含量

月份 month	总砷 total arsenic		无机砷 inorganic arsenic	
	大连 Dalian	福建 Fujian	大连 Dalian	福建 Fujian
2 月 Feb.	29.22 ± 0.79 ^a	36.85 ± 1.79 ^b	0.569 9 ± 0.016 4 ^a	0.321 7 ± 0.003 4 ^b
3 月 Mar.	30.55 ± 1.54 ^a	42.21 ± 0.94 ^b	0.566 8 ± 0.017 6 ^a	0.286 3 ± 0.013 5 ^b

注:不同字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。

Notes: Different superscripts mean significant difference ($P < 0.05$).

由表 2 可以看出,2 月和 3 月福建海域养殖的 A 品种海带总砷含量高于大连海域养殖的 A,具有显著性差异 ($P < 0.05$);无机砷含量福建低于大连,也具有显著性差异 ($P < 0.05$)。另外,2 月到 3 月,福建海域养殖的 A 品种海带中总砷含量增加,无机砷含量减少,与在大连海域养殖的 A 品种海带有相似的规律。

3 讨论

3.1 影响海带富集砷的因素

A 品种海带总砷含量在 30.55 ~ 40.21 mg/kg, B 品种海带总砷含量在 39.41 ~ 54.99 mg/kg, C 品种海带总砷含量在 36.85 ~ 50.11 mg/kg, 品种 C 总砷含量最高。藻类的细胞壁主要是由纤维素、果胶质、藻酸铵岩藻多糖和聚半乳糖硫酸酯等组成的网状结构,细胞壁组成和各种物质的比例不同,决定了富集的效率与选择性^[11],生长在同

一个海域的 3 个品种总砷含量差别很大,可能是由于不同品种海带细胞壁结构不同,导致对砷的富集容量不同。同时,海水及海水沉积物中砷含量也影响藻体内砷的含量^[8],由于 3 个海带样品采集点相离很近,所以此方面因素影响应该较小。

EDMONDS 等^[12]研究表明,大多数海藻中的砷化合物主要是有机砷,而藻体最初从海水中富集的无机砷只是以简单的吸附形式存在藻体内,然后进行甲基化反应,生成甲基砷有机化合物,甲基砷有机化合物又与磷脂质、糖类结合,产生更为复杂的有机砷化合物^[13]。3 月份藻体相对较小,加之水温较低,物质和能量代谢缓慢,无机砷转化有机砷也较缓慢,所以无机砷含量相对高。随着气温的回升和藻体生长无机砷转化有机砷速度增快无机砷含量逐渐减少。目前,对无机砷富集规律的研究很少,此方面有待于今后的进一步研究证明。

同一海带品种,在不同海域对砷的富集差异

一方面受海水和底泥中砷含量水平及存在形态的影响,海水与底泥中砷的含量是密切相关^[14-15];另一方面由于其所处的海水环境、气候、温度等因素的不同,砷含量也会不同^[8]。

3.2 砷对海带食用安全性的影响

研究表明,随海带生长,总砷含量呈明显增加趋势,无机砷含量呈降低趋势,占总砷比例也逐渐降低。已有研究表明,海带中总砷含量虽然很高,但是主要以有机砷形式存在^[12],从图 3 中可以看出 3 个品种海带在不同生长周期有机砷含量均占到 98% 以上。

海藻中的砷主要以砷糖、As^{III}、As^V、DMA 形式存在,其中砷糖占 90% 以上。不同形态的砷,毒性也不同,有研究表明,砷糖的毒性很小,以砷化合物的半致死量 LD₅₀ (mg/kg) 计,其毒性由大到小依次为 As^{III} (14) > As^V (20) > MMA^V (200 ~ 1 800) > DMA^V (200 ~ 2 600) > AsC (> 6 500) > AsB (> 10 000)^[16]。

从研究结果来看,在不同生长时期和不同海域养殖的海带中无机砷含量远低于我国现行的藻类制品卫生标准中的限量 (< 1.5 mg/kg)^[17] 要求,同时也表明,生长后期收获的海带无机砷含量较低,从食用安全考虑更为理想。

4 结论

由上述研究可以得出,海带对砷富集量的大小主要与生长时间、品种和海域有关,不同品种海带在生长周期内总砷含量逐渐增加,无机砷含量逐渐减少,不同生长周期增、减量存在差异,砷的富集也各不相同;同一品种海带中无机砷和总砷含量在不同养殖海域存在明显的差异;按照现行食品卫生标准进行评价,海带中无机砷不对食用安全造成影响,但从食用安全性考虑,在满足加工和食用感官要求的情况下,后期采收的海带食用安全风险更小。

参考文献:

- [1] SHIOMIK K. Chemical form, toxicity and metabolism of arsenic contained in marine organisms [J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 1992, 33(1): 1-10.
- [2] 陆开形,唐建军,蒋德安. 藻类富集重金属的特点及应用展望[J]. 应用生态学报, 2006, 17(1): 118-122.
- [3] NATALIE K. KAROUNA R, RICHARD A S, JEFFREY G A, *et al.* Accumulation of organic and inorganic contaminants in seaweed collected in estuarine waters near Pensacola, Florida: Contamination profiles and risks to human consumers [J]. Environmental Pollution, 2006, 142: 471-482.
- [4] 陈小霞,吴振强,梁世中. 藻类对微量元素的生物富集及其机理探讨[J]. 食品与工业发酵, 1999, 25(4): 56-60.
- [5] 李志勇,郭祀远,李琳,等. 藻类对微量元素的富集及其应用[J]. 微生物学通报, 1997, 24(6): 368-369.
- [6] 中华人民共和国卫生部,中国标准化管理委员会. GB/T 5009. 11-2003 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2003.
- [7] 尚德荣,宁劲松,赵艳芳,等. 高效液相色谱-原子荧光联用技术测定海藻中无机砷[J]. 水产学报, 2010, 34(1): 132-138.
- [8] 孙飏,范晓. 海藻中砷的含量分布特征[J]. 海洋科学, 1996, 5: 24-27.
- [9] NRIAGU J O. Arsenic in the environment: human health and ecosystem effects[M]. New York: Wiley-Blackwell, 1994: 261-293.
- [10] LEERMAKERS M, BAEYENS W, DEGIETER M, *et al.* Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2006, 25(1): 1-10.
- [11] 王宪,徐鲁荣,陈丽丹,等. 海藻生物吸附金属离子技术的特点和功能[J]. 台湾海峡, 2003, 22(1): 120-124.
- [12] EDMONDS J S, FRANCESCONI K A. Arsenic in seafoods: Human health aspects and regulations [J]. Marine Pollution Bulletin, 1993, 26(12): 665-674.
- [13] 孙建璋,孙海藻. 海带含砷问题的探讨[J]. 海洋水产科技, 1999, 57(1): 38-41.
- [14] 蒋岳文,周艳华. 大连湾海水和底质中砷的含量及分布特征[J]. 海洋环境科学, 1991, 10(4): 57-60.
- [15] 刘明华. 辽东湾北部浅海区底泥砷元素形态特征[J]. 地质与资源, 2010, 1(19): 32-35.
- [16] VEGA L, STYBLO M, PATTERSON R, *et al.* Differential effects of trivalent and pentavalent arsenicals on cell proliferation and cytokine secretion in normal human epidermal keratinocytes [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2002, 172(3): 225-232.
- [17] 中华人民共和国卫生部,中国标准化管理委员会. GB 19643-2005 藻类制品卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社, 2005.

Studies on the differences of the arsenic's enrichment characteristics in kelps from different regions and varieties

SHU Ben-sheng^{1,2}, WANG Fei-jiu², SHANG De-rong², NING Jing-song²,
SUN Xiu-tao², ZHAO Yan-fang², WANG Wen-jun², LI Tao², ZHAI Yu-xiu^{2*}

(1. Food Engineering College, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The experiments aim to study the enrichment regularity of inorganic arsenic and total arsenic in kelp by analyzing the variation of inorganic and total arsenic in kelps which are from different maritime regions and different species during their growth. The content of inorganic arsenic is detected by HPLC-AFS, while the content of the total arsenic is examined by hydride atomic fluorescence spectrophotometry in GB/T 5009.11-2003. The results show that the enrichment in kelps of total arsenic displays an increase trend in growing season, whereas the content of inorganic arsenic is decreasing. The percentage of inorganic arsenic in total arsenic decreased from 1.36%–1.47% (March) to 0.41%–0.57% (July). The enrichment of inorganic and total arsenic varies from kelp to kelp even they are cultivated in the same maritime region, meanwhile, the same types of kelps have dramatically different contents of inorganic and total arsenic, which depends on the variety of maritime regions. Judging from the data, the contents of inorganic arsenic in all examined kelps are far below the MRL and will have no negative effects on food safety. The study provides relevant theory foundation for food safety and processing.

Key words: kelp; total arsenic; inorganic arsenic; accumulation regularity

Corresponding author: ZHAI Yu-xiu. E-mail: zhaiyx@ysfri.ac.cn