

我国几种重要经济贝类中砷的含量及其形态特征转化规律

赵艳芳¹, 段元慧², 尚德荣^{1*}, 翟毓秀¹, 盛晓风¹, 宁劲松¹

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 大连海洋大学食品工程学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 为了研究贝类中砷的含量及其形态特征, 实验采用 HPLC-ICP-MS 联用技术结合体外全仿生消化模型分析了我国几种重要经济贝类中砷的形态特征及 4 种主要有毒砷形态的含量。结果显示, 缢蛭中总砷含量最高, 浓度为 5.68 mg/kg, 毛蚶 4.83 mg/kg, 栉孔扇贝、牡蛎和鲍鱼的含量为 2.26~2.70 mg/kg, 且三者之间无显著差异 ($P > 0.05$), 菲律宾蛤仔和贻贝中总砷含量较低, 分别为 1.35 和 1.57 mg/kg。砷甜菜碱 (AsB) 是所有贝类水提液和胃肠全仿生消化液中砷的主要形态, 尤其对于毛蚶, AsB 是唯一的砷形态。栉孔扇贝、菲律宾蛤仔和缢蛭水提液中分别检测到 0.025、0.008 和 0.300 mg/kg As^{3+} , 另外缢蛭水提液中还检测到 0.115 mg/kg As^{5+} 。除毛蚶和贻贝外, 其余 5 种贝类的水提液中均检测到不同浓度的 DMA, 其中缢蛭中 DMA 浓度最高, 为 0.674 mg/kg。将贝类样品经过胃和肠消化液作用后, 仅在缢蛭的肠消化液中检测出 DMA, 其余 6 种贝类中均未检出 4 种主要有毒砷形态。研究表明, 贝类体内的砷形态及含量与在胃肠消化液作用后的砷形态及含量存在很大差异, 尤其表现在 4 种主要有毒砷形态。

关键词: 贝类; 砷; 形态分析; 体外全仿生消化; HPLC-ICP-MS

中图分类号: X 835; S 917.3

文献标志码: A

砷元素作为一种常见的有毒有害元素, 一直是人们关注的重点。海洋生物体内砷化合物含量很高, 是人体摄入砷的重要来源之一^[1]。研究表明, 砷的毒性与其存在形态密切相关。无机砷的毒性最大, 三价无机砷 (As^{3+}) 能与带巯基 (-SH) 的酶生成稳定的螯合物, 使得很多酶的活性降低或消失, 严重干扰细胞的生物功能和正常代谢, 而进入人体的一甲基砷酸盐 (Monomethylarsonic acid, MMA)、二甲基砷酸盐 (Dimethylarsinic acid, DMA) 及无机砷在酶的作用下脱去甲基形成自由基, 使抗体产生有害的 O^{2-} 或 $[OH]^-$, 促使脂质氧化作用进行, 损害膜细胞^[2-5]。其中三价无机砷 (As^{3+}) 比五价无机砷 (As^{5+}) 的毒性强 60 倍, 甲基化砷的毒性较小, 砷甜菜碱 (Arsenobetaine, AsB)、砷胆碱 (Arsenocholine, AsC) 和砷糖 (Arsenosugar)

常被认为是无毒的^[6-8]。因此, As^{3+} , As^{5+} , MMA 和 DMA 是威胁人类身体健康最为重要的 4 种砷形态。

栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)、牡蛎 (*Concha Ostreae*)、菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 等是我国重要的经济贝类, 但近年来黄渤海地区市场的食用贝类及直接从沿海地区捕获的贝类体内的砷含量也较高。大量研究表明, 海产品中的砷主要是毒性较小的有机砷, 且基本上是以砷甜菜碱和砷胆碱形式存在, 另外还存在更复杂的砷化合物包括砷糖、砷脂类化合物等^[9-10]。但是目前尚没有关于生物体胃肠消化液作用下贝类中砷的存在形态以及形态转化规律的研究。全仿生消化法即模拟人体消化环境, 加入消化中液所含的无机物和有机物 (包括消化酶), 探讨贝类中砷在

收稿日期: 2012-11-06 修回日期: 2013-01-28

资助项目: 国家自然科学基金项目 (41206101)

通信作者: 尚德荣, E-mail: shangdr@ysfri.ac.cn

人体消化液作用后的主要存在形态。与动物模型相比,体外全仿生消化技术评价贝类中砷形态变化更可靠、简便、易行。

目前对砷的形态分析主要采用液相色谱(HPLC)分离与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)、电感耦合等离子体发射光谱(ICP-AES)、原子荧光光谱(AFS)、原子吸收光谱(AAS)等联用技术^[11]。ICP-MS具有灵敏度高、检出限低等优点,已成为砷形态分析中最具前景的联用方法之一,并成功运用阴/阳离子交换色谱与ICP-MS联用进行了砷形态分析^[11-13]。本实验拟采用液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用(HPLC-ICP-MS)技术结合体外全仿生消化法分析我国主要经济贝类中的4种主要有毒砷在生物体胃肠消化液作用下的转化规律,以期为海产品中砷的食用安全性评价提供更为科学、准确的依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

栉孔扇贝、牡蛎、菲律宾蛤仔、缢蛏(*Solen strictus*)、毛蚶(*Scapharca subcrenata*)、贻贝(*Mytilus edulis*)、鲍(*Haliotis discus hannai*)共7种贝类随机购自青岛水产品市场。

1.2 胃和肠全仿生消化液制备

制备胃和肠全仿生消化液,分别加入胃和肠中所含的有机物和无机物,调pH值至各消化液对应的pH值,分别加入相应消化酶,制备胃和肠全仿生消化液^[14-15]。

所用试剂包括淀粉酶、尿酸、粘液素、牛血清蛋白、胃蛋白酶、胰液素、脂肪酶、胆汁和卵磷脂等均购自美国Sigma试剂公司。

1.3 7种贝类全仿生胃肠提取液制备

贝类全仿生胃肠提取液制备参考林路秀等^[15]和Li等^[16]并有所改进:将7种贝类样品分别用超纯水冲洗至少3遍以后,煮熟,去壳后匀浆,称取约2.5g样品,加入全仿生唾液10mL,在37℃下恒温振荡10min后,加胃液150mL,在37℃下恒温振荡3h,从胃仿生消化食糜中取100mL,以8000r/min转速于4℃离心10min,取上清液用0.45μm滤膜抽滤,得胃全仿生提取液;往余下的胃仿生消化食糜中加十二指肠液200mL和胆汁80mL,在37℃下恒温振荡7h,取肠

仿生消化食糜100mL,以8000r/min转速于4℃离心10min,取上清液用0.45μm滤膜抽滤,得肠全仿生提取液。胃和肠的全仿生提取液于4℃下保存待用。

1.4 贝类中4种砷形态提取

贝类中三价无机砷(As^{3+})、五价无机砷(As^{5+})、一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)4种有毒砷形态均为水溶性,因此以水作为提取剂,最能反映生物体中4种有毒砷形态的含量^[17],提取方法参照GB/T 23372-2009^[18],取7种贝类样品各约2.500g,加入38mL水,涡旋混匀后,超声提取40min,加入3%乙酸溶液2mL混匀沉淀蛋白,于4℃冰箱中静置5min后,以8000r/min转速于4℃离心10min后,吸取上清液过0.45μm滤膜,滤液于4℃下保存待用。

1.5 贝类水提液及胃肠全仿生消化液中4种砷形态分析

将胃和肠的全仿生提取液和水提液注入HPLC-ICP-MS联用仪(美国Perkin Elmer公司)对 As^{3+} 、 As^{5+} 、MMA和DMA4种形态的砷进行定性和定量分析。 As^{3+} 、 As^{5+} 、MMA、DMA以及砷甜菜碱(AsB)等标准储备液购自国家标准物质中心。5种已知砷形态的色谱分离见图1,从图中可见,该联用分析条件能够较好的分离各种形态的砷。 AsB 、DMA、 As^{3+} 、MMA、 As^{5+} 的保留时间分别为2.60、3.08、3.79、6.60和8.86min。

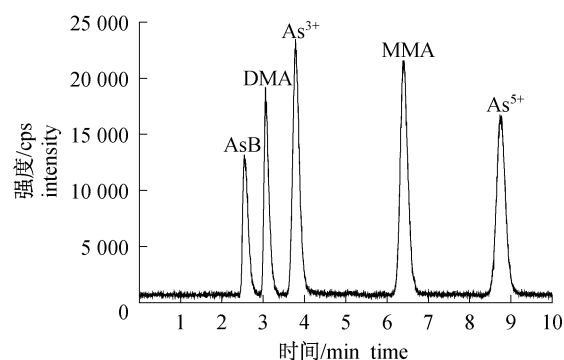


图1 HPLC-ICP-MS分析砷的形态色谱图
Fig.1 Chromatograph of arsenic speciation using HPLC-ICP-MS

1.6 贝类中总砷含量分析

贝类中总砷的消解方法采用微波消解法^[19],

称取 2.00 g 样品于消解罐中,加入 5 mL 硝酸,2 mL 过氧化氢。将消解罐放入微波消解系统 (Mars 40, 美国 CEM 公司) 中消解。消解完全后赶酸,然后用超纯水将消解液转移,定容至 50 mL,摇匀后用 ICP-MS 测定溶液中总砷的含量。为检验和保证测定的准确性,同时分析了扇贝成分分析标准物质 GBW10024 (GSB-15) (购自国家标准物质中心)。

1.7 数据统计方法

计算每一组数据平均值和标准差,运用 SPSS 16.0 数据分析软件对每种贝类总砷的含量进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 差异显著后进行 Turkey 多重比较,以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果

2.1 贝类样品内总砷含量

7 种贝类体内总砷含量为 1.35 ~ 5.68 mg/kg (表 1)。不同贝类体内总砷含量差异很大,对不同贝类体内总砷含量进行了差异性分析,结果显示缢蛭中总砷含量最高,其次为毛蚶,且前者的含量显著高于后者 ($P < 0.05$); 栉孔扇贝、牡蛎和鲍鱼中总砷含量无显著差异 ($P > 0.05$), 分别为 2.55、2.26 和 2.70 mg/kg; 贻贝和菲律宾蛤仔中的总砷含量最低,分别为 1.57 和 1.35 mg/kg。运用该方法测定栉孔扇贝成分分析标准物质中总砷含量为 3.3 mg/kg, 结果在标准值 $[(3.6 \pm 0.60) \text{ mg/kg}]$ 范围内。

2.2 贝类水提液中砷形态特征及 4 种砷形态含量

7 种贝类水提液中砷的主要形态为砷甜菜碱 (AsB), 4 种主要有毒砷形态含量见表 2, 所有贝

类中均未检测到 MMA。栉孔扇贝水提液中检测到 DMA 和 As^{3+} , 以 As 计, 浓度分别为 0.139 和 0.025 mg/kg。牡蛎水提液中检测到一保留时间为 2.90 min 的未知砷和浓度为 0.219 mg/kg 的 DMA。菲律宾蛤仔的水提取液中检测到 DMA、 As^{3+} 和一保留时间为 2.88 min 的未知砷形态, DMA 和 As^{3+} 的浓度分别为 0.175 和 0.008 mg/kg。而对于缢蛭, 水提取液中的砷形态较为复杂, 包括 DMA、 As^{3+} 、 As^{5+} 以及保留时间为 2.88 min 的未知砷形态。其中, DMA、 As^{3+} 和 As^{5+} 的浓度分别为 0.674、0.300 和 0.115 mg/kg。在鲍水提取液中, 未检测到无机砷, 其中 DMA 为 0.048 mg/kg。毛蚶中砷的形态较简单, 在水提取液中, AsB 是唯一的砷存在形式, 未发现 4 种已知的有毒砷形态。贻贝水提取液中砷的形态除 AsB 外, 同样包括一保留时间为 2.88 min 的未知砷形态, 也未发现 4 种已知的有毒砷形态。

表 1 7 种贝类中总砷含量

Tab. 1 Total arsenic content of 7 kinds of shellfishes

名称 name	总砷/(mg/kg) total As
栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>	2.55 ± 0.14 ^b
牡蛎 <i>C. Ostreae</i>	2.26 ± 0.20 ^b
菲律宾蛤仔 <i>R. philippinarum</i>	1.35 ± 0.12 ^a
缢蛭 <i>S. strictus</i>	5.68 ± 0.32 ^d
鲍鱼 <i>H. discus hannai</i>	2.70 ± 0.22 ^b
毛蚶 <i>S. subcrenata</i>	4.83 ± 0.28 ^c
贻贝 <i>M. edulis</i>	1.57 ± 0.18 ^a

注: 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

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

表 2 7 种贝类水提液中 4 种砷形态含量

Tab. 2 Content of different arsenic speciation in water extracts of 7 kinds of shellfishes mg/kg

	DMA	As^{3+}	MMA	As^{5+}
栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>	0.139 ± 0.003 5	0.025 ± 0.001 5	ND	ND
牡蛎 <i>C. Ostreae</i>	0.219 ± 0.010	ND	ND	ND
菲律宾蛤仔 <i>R. philippinarum</i>	0.175 ± 0.002 2	0.008 ± 0.001 2	ND	ND
缢蛭 <i>S. strictus</i>	0.674 ± 0.013	0.300 ± 0.011	ND	0.115 ± 0.003 1
鲍鱼 <i>H. discus hannai</i>	0.048 ± 0.005 2	ND	ND	ND
毛蚶 <i>S. subcrenata</i>	ND	ND	ND	ND
贻贝 <i>M. edulis</i>	ND	ND	ND	ND

注: ND 表示未检出。

Notes: ND means not detected.

综合7种贝类水提液中的砷形态分析可见,AsB是所有贝类中的主要砷形态,尤其是对于毛蚶,AsB是唯一的砷形态。牡蛎、菲律宾蛤仔、缢蛏和贻贝的水提取液中均有一种保留时间为2.88 min左右的未知砷形态。栉孔扇贝、菲律宾蛤仔和缢蛏中均检测到 As^{3+} ,缢蛏中还检测到 As^{5+} ,除毛蚶和贻贝外,其余5种贝类的水提液中均检测到不同浓度的DMA。

2.3 贝类全仿生胃肠消化液中砷的形态特征及4种砷形态含量

AsB是栉孔扇贝胃肠全仿生消化液中的主要砷形态,另外在胃全仿生消化液中检测到 As^{3+} ,但是其浓度低于方法检出限($< 0.002 \text{ mg/kg}$)^[18],而在肠仿生消化液中未检测到4种主要有毒砷形态。对于牡蛎、菲律宾蛤仔、鲍、毛蚶和贻贝,在胃肠全仿生消化液作用下,AsB是唯一的砷形态,未检测到4种有毒砷形态。缢蛏在胃仿生消化液作用3 h后,砷形态主要为AsB和两种保留时间分别为2.90和5.39 min的未知砷形态。而在肠仿生消化液中,砷形态主要为AsB和DMA,且DMA的浓度为 0.276 mg/kg 。

综上所述,将贝类样品经过胃肠全仿生消化液消化后,AsB仍是所有贝类的主要砷形态。对于4种主要有毒砷形态,仅在缢蛏的肠消化液中检测出DMA,其余6种贝类在经过3 h的胃消化液作用和7 h的肠消化液作用后,均未检出4种主要有毒砷形态。

3 讨论

几种主要养殖经济贝类体内总砷含量存在一定的种间差异,反映了各种贝类对砷具有不同的吸收、排泄和富集能力。本研究表明缢蛏和毛蚶等滩涂养殖底栖贝类中的总砷含量较高,而栉孔扇贝、牡蛎、鲍和贻贝等浅海筏式养殖贝类中的总砷含量较低。本研究结论与以前的研究结论相似。钟硕良^[20]研究显示福建闽南沿海滩涂养殖底栖贝类体内总砷平均含量总体上高于浅海筏式养殖贝类,并指出其原因可能是滩涂表层的微生物能将表层沉积物中与铁、锰、铝的氢氧化物和含水氧化物共沉淀的砷还原以及将生物尸体中的砷矿化成砷酸盐释放至间隙水中。在涨潮时,间隙水中较高浓度的砷与上覆水交换而迁移扩散到海水中,使得滩涂表面上覆水中的砷含量升高,而此

时滩涂养殖贝类正值滤水、摄食等生理活动高峰期。另外,不同贝类体内总砷含量的差异可能与摄取饵料种类、饵料组分以及栖息环境受陆源砷污染的影响程度有关。

研究同时表明,不同贝类体内砷形态特征存在很大差异。本实验所有贝类水提液中砷的主要存在形态为砷甜菜碱(AsB),结论与前期研究结论相同^[9-10]。砷甜菜碱是海洋动物中砷的最主要存在形式,Cullen等^[6]提出砷甜菜碱代表了海洋生态系统中砷循环的终点,它的化学性质属惰性、无毒、且能迅速被排泄。特别是在人体和其他哺乳动物中一般不发生转化,经常是不发生任何改变便被排泄出体外。体外试验证明,砷甜菜碱不能诱导哺乳动物细胞突变,没有细胞毒性及免疫毒性,并且在鼠的毒性试验中未发现胚胎毒性^[21-22]。对于4种主要有毒砷形态,所有贝类中均未检测到MMA,而在栉孔扇贝、牡蛎、菲律宾蛤仔、缢蛏和鲍水提取液中,均检测到不同浓度的DMA,其中缢蛏中DMA含量最高。过去认为砷在体内的甲基化过程使砷易于排出体外,是一个解毒过程,但近年的研究表明,砷的甲基化代谢物(尤其是DMA)也具有细胞毒性^[2-3]。DMA和分子氧之间反应,形成活性氧参与DNA的损伤形成^[23]。DMA的急性毒性试验表明,其 LD_{50} 为 $200 \sim 2600 \text{ mg/kg}$ ^[24]。虽然目前国内外尚无食品中DMA的限量标准,但是在本实验中,贝类水提取液中DMA的最高浓度为 0.674 mg/kg (以砷计),因此可以推断贝类中DMA的食用风险较低。另外,在栉孔扇贝、菲律宾蛤仔和缢蛏3种贝类中检测到无机砷,其中前两者仅检测到 As^{3+} ,分别为 0.025 和 0.008 mg/kg ,而在缢蛏中检测到 0.300 mg/kg 的 As^{3+} 和 0.115 mg/kg 的 As^{5+} 。结合贝类中的总砷含量,可以得出贝类中无机砷的含量与总砷含量无相关关系,虽然在本实验所取的贝类样品中,缢蛏中总砷含量和无机砷含量均最高,但是总砷含量位居第二的毛蚶中未发现无机砷,砷全部以砷甜菜碱的形态存在。由于生物体内砷的存在形态能够反映砷的生物化学行为、解毒机理以及砷在吸收和转运过程中的变化^[25],因此,不同贝类体内砷存在形态的差异说明不同种类贝类对砷的吸收、转化和解毒能力不同。

食品中砷的毒性主要取决于砷的化学形态和

生物体对砷的吸收利用度,因此为了更准确地评估贝类中砷的食用安全性,除了需要研究贝类中砷的形态及含量外,也亟需研究在生物体代谢作用后的砷形态及含量^[26]。但是,人体试验成本较高,耗时,难操作而且会产生许多不稳定的结果。实验室动物实验成本较低,缺点是动物与人代谢活动存在很大差异,实验结果存在许多不确定性。体外全仿生消化实验具有操作简便、快捷并且成本低的优点^[27-29],因此,本研究采用体外全仿生消化模型,研究了在胃肠全仿生消化作用下,贝类中砷的形态以及4种主要有毒砷形态的含量。研究表明除缢蛭外,其余6种贝类在经过3h胃消化液作用和7h肠消化液作用后,均未检测到4种砷形态。在缢蛭胃和肠消化液作用下,分别检出0.941和0.276 mg/kg的DMA。所有贝类在胃肠全仿生消化作用下,砷的主要存在形态为AsB。

通过比较贝类体内与生物体胃肠消化液作用下贝类体内的砷形态及含量,可以发现两者存在很大差异,尤其是对于4种有毒砷形态。在胃肠消化液作用下,除在缢蛭中检测到DMA外,其余所有贝类中未检测到无机砷、DMA或MMA。但是在水提取液中,除毛蚶和贻贝外,均检测到不同浓度的DMA、As³⁺或As⁵⁺。目前,国内外有关食品中砷的风险评估重点关注的是无机砷的含量。本实验按照国标GB/T 23372-2009的方法分析表明,在栉孔扇贝、菲律宾蛤仔和缢蛭中检测到无机砷,含量分别为0.025、0.008和0.415 mg/kg。但是经过胃肠消化液作用后,所有贝类的消化液中均未检测到无机砷。本研究结果进一步表明,对贝类中砷的风险评估不应仅局限于对贝类中砷的形态及含量分析,还应结合砷在生物体代谢作用后的形态转化及含量变化规律,才能更为准确地反映砷的食用安全性。

4 结论

7种贝类总砷含量存在较大的种间差异,本研究表明,缢蛭中总砷含量最高,毛蚶其次,栉孔扇贝、牡蛎和鲍中总砷含量无显著差异,贻贝和菲律宾蛤仔总砷含量最低。

7种贝类体内砷形态存在很大差异,砷甜菜碱(AsB)是所有贝类的主要砷形态,且是毛蚶中唯一的砷形态;除毛蚶和贻贝外,其余贝类中均检

测到DMA,另外栉孔扇贝、菲律宾蛤仔中检测到As³⁺,缢蛭中检测到As³⁺和As⁵⁺。

7种贝类经胃肠全仿生消化液消化后,AsB仍是所有贝类提取液中的主要砷形态。对于4种主要有毒砷形态,仅在缢蛭的肠消化液中检测到DMA,其余6种贝类提取液中均未检出4种主要有毒砷形态。

参考文献:

- [1] Norwood W P, Borgmann U, Dixon D G. Chronic toxicity of arsenic, cobalt, chromium and manganese to *Hyalomma azteca* in relation to exposure and bioaccumulation[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147(1):262-272.
- [2] Petrick J S, Ayala-Fierro F, Cullen W R, et al. Monomethylarsonous acid(MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2000, 163(2):203-207.
- [3] Chen G Q, Zhou L, Styblo M, et al. Methylated metabolites of arsenic trioxide are more potent than arsenic trioxide as apoptotic but not differentiation inducers in leukemia and lymphoma cells[J]. *Cancer Research*, 2003, 63(8):1853-1859.
- [4] Mouron S A, Grilo C A, Dulout F N, et al. DNA-protein cross-links and sister chromatid exchanges induced by dimethylarsinic acid in human fibroblasts cells [J]. *Mutation Research*, 2005, 581(1-2):83-90.
- [5] Schwerdtle T, Walter I, Mackiw I, et al. Induction of oxidative DNA damage by arsenite and its trivalent and pentavalent methylated metabolites in cultured human cells and isolated DNA [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(5):967-974.
- [6] Cullen W R, Reimer K J. Arsenic speciation in the environment [J]. *Chemical Reviews*, 1989, 89(4):713-764.
- [7] Kaise T, OyaOhta Y, Ochi T, et al. Toxicological study of organic arsenic compound in marine algae using mammalian cell culture technique [J]. *Journal of the Food and Hygienic Society of Japan*, 1996, 37(3):135-141.
- [8] 高杨,曹焯,余晶晶,等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定干海产品中砷化学形态[J]. *分析化学*, 2009, 37(12):1738-1742.
- [9] Zhang X R, Comelis R, J de Kimpe, et al. Speciation of toxicologically important arsenic species in human

- serum by liquid chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1996, 11: 1075 - 1079.
- [10] Lamble K J, Hill S J. Arsenic speciation in biological sample by on-line high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorption spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1996, 334(3): 261 - 270.
- [11] 李卫华, 刘玉海. 阴/阳离子交换色谱 - 电感耦合等离子体质谱法分析鱼和贝类海产品砷的形态 [J]. *分析化学*, 2011, 39(12): 1912 - 1916.
- [12] Larsen E H, Pritzel G, Hansen S H. Arsenic speciation in seafood samples with emphasis on minor constituents: An investigation by high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1993, 8(8): 1075 - 1084.
- [13] Madsen A D, Goessler W, Pedersen S N, *et al.* Characterization of an algal extract by HPLC-ICP-MS and LC-electrospray MS for use in arsenosugar speciation studies [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2000, 15(9): 657 - 662.
- [14] Omen A G, Rompelberg C J M, Bruil M A, *et al.* Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 44(3): 281 - 287.
- [15] 林路秀, 李顺兴, 郑凤英. 应用体外仿生模型分析海藻水煎液中微量金属的形态和生物可给性 [J]. *分析化学*, 2010, 38(6): 823 - 827.
- [16] Li S X, Lin L X, Lin J, *et al.* Speciation analysis, bioavailability and risk assessment of trace metals in herbal decoctions using a combined technique of *in vitro* digestion and biomembrane filtration as sample pretreatment method [J]. *Phytochemical Analysis*, 2010, 21(6): 590 - 596.
- [17] Francesconi K A, Kuehnelt D. Determination of arsenic species: a critical review of methods and applications, 2000 - 2003 [J]. *Analyst*, 2004, 129(5): 373 - 395.
- [18] GB/T 23372 - 2009. 食品中无机砷的测定 液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [19] Duarte F A, Pereira J S F, Barin J S, *et al.* Seafood digestion by microwave-induced combustion for total arsenic determination by atomic spectrometry techniques with hydride generation [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2009, 24: 224 - 227.
- [20] 钟硕良. 福建闽南沿海养殖贝类体中砷含量的分布 [J]. *海洋学报*, 2005, 27(6): 116 - 122.
- [21] Sakurai T, Jojima C, Ochiai M, *et al.* Evaluation of *in vivo* acute immunotoxicity of a major organic arsenic compound arsenobetaine in seafood [J]. *International Immunopharmacology*, 2004, 4(2): 179 - 184.
- [22] Sakurai T, Fujiwara K. Modulation of cell adhesion and viability of cultured murine bone marrow cells by arsenobetaine, a major organic arsenic compound in marine animals [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 132(1): 143 - 150.
- [23] 安艳, 高增林. 砷甲基化代谢产物的作用机制 [J]. *职业卫生与病伤*, 2000, 15(3): 176 - 177.
- [24] Michael F H. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action [J]. *Toxicology Letters*, 2002, 133(1): 1 - 16.
- [25] Szpunar J. Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques [J]. *Analyst*, 2000, 125(5): 963 - 988.
- [26] National Research Council. Arsenic in drinking water [M]. Washington, D C: National Academy Press, 1999.
- [27] Vitali D, Dragojević I V, Šebečić B. Bioaccessibility of Ca, Mg, Mn and Cu from whole grain tea-biscuits: Impact of proteins, phytic acid and polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2008, 110(1): 62 - 68.
- [28] Hemalatha S, Gautam S, Platel K, *et al.* Influence of exogenous iron, calcium, protein and common salt on the bioaccessibility of zinc from cereals and legumes [J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2009, 23(2): 75 - 83.
- [29] García N M J, Alegría A, Barberá R, *et al.* Addition of milk or caseinophosphopeptides to fruit beverages to improve iron bioavailability [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(1): 141 - 148.

Arsenic content and speciation analysis of several economic shellfishes in China

ZHAO Yanfang¹, DUAN Yuanhui², SHANG Derong^{1*},
ZHAI Yuxiu¹, SHENG Xiaofeng¹, NING Jinsong¹

(1. Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Food Engineering College, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: The arsenic speciation and the content of four toxic arsenic (including As^{3+} , As^{5+} , MMA and DMA) in several main economic shellfishes in our country were analyzed using HPLC-ICP-MS combined with *in vitro* digestion method. Results showed that *S. strictus* had the highest total arsenic content (5.68 mg/kg), the second was in *S. Subcrenata* (4.83 mg/kg), the total arsenic content in *C. Farreri*, *C. Ostreae* and *H. discus hannai* were much lower (2.26 – 2.70 mg/kg) and three of them had no significant difference. The lowest content was in *R. Philippinarum* and *M. edulis*. AsB was the main arsenic speciation in both water extraction and gastrointestinal extraction for all samples, and especially for *Scapharca subcrenata*, AsB was the only arsenic speciation. About 0.025, 0.008 and 0.300 mg/kg As^{3+} were separated in the water extraction of *C. farreri*, *R. philippinarum* and *S. strictus* respectively. In addition, 0.115 mg/kg As^{5+} was also detected in the water extraction of *S. strictus*. Different concentration of DMA was found in the water extraction of all samples except for *S. subcrenata* and *M. edulis*, with the highest content of 0.674 mg/kg in *S. strictus*. However, except in *S. strictus*, DMA was detected in the intestinal extraction, none of four toxic arsenic speciations were found in the gastrointestinal extraction of other shellfishes. Present experiments proved that the arsenic speciation in the water extraction which could reflect the real content in shellfishes and in gastrointestinal extraction which could reflect the real content under the gastrointestinal digestion was different, especially for four toxic arsenic speciation.

Key words: shellfishes; arsenic; speciation analysis; *in vitro* biomimetic; HPLC-ICP-MS

Corresponding author: SHANG Derong. E-mail: shangdr@ysfri.ac.cn