

貝類藥材中砷含量之調查研究

潘子明 陳晏裕 *陳建志 **王健行

預防醫學研究所 *中國醫藥研究所 **大仁藥專

摘要

貝類外殼為以碳酸鈣構築保護此軟體動物之硬骨組織，在貝類生命期中，硬殼會隨著軟體組織成長而增生。在中藥處方中有以珍珠、牡蠣、石決明、瓦楞子等為藥材。而近年來工業廢水污染海水，造成海洋生物大量死亡，破壞海洋生態平衡並使得海洋生物體內堆積某些物質。

以中藥用藥安全上之考量，將一些用於中藥材的貝類硬殼如珍珠、牡蠣、石決明、瓦楞子等，經過酸液消化處理後，以氫化物生成法原子吸收光譜儀定量砷元素。結果四種貝類中藥材中砷之含量分別為4.45 ppm、3.41 ppm、1.93 ppm及5.28 ppm。此一結果顯示市售貝類中藥材中砷含量仍在人體耐受範圍以內。

前言

工業廢水任意流放，污染了沿海海水，生長在高濃度重金屬環境中之生物族群，不免會受生長環境影響而蓄積某些特定化學物質。

許多案例顯示，污染的海水導致有毒化學物質蓄積於魚貝類體內以及屍體和沉積物(sediment)之中^(1,2,3)。一些以魚貝類做為藥材，就用藥安全上則須顧慮到環境污染對中藥藥材組成份的影響；因此對於中藥所用之貝類藥材中所含有毒化學物質之含量需限制於安全範圍。

由於重金屬污染沿海海水，污染的重金屬元素蓄積於貝類體內⁽⁴⁾，人們誤食受污染魚貝類造成重金屬元素在人體內蓄積⁽⁵⁾，長期的蓄積不免對人體造成相當程度的傷害，此在流行病學上已有相當明確的報導⁽⁶⁾。然而在中藥藥材使用上，有關於貝類藥材如石決明、瓦楞子、珍珠、牡蠣等等藥材，是否會因有毒重金屬元素的沉積而造成藥物中毒，目前尚無相關的文獻報導。

在重金屬元素污染而導致人體病害，以砷(arsenic)、鉛(lead)、汞(mercury)等三種重金屬造成的毒害最為嚴重。因而對貝類中藥材中重金屬元素含量是否超過人體耐受安全量，此與藥物使用安全

性有密切關係。

砷的三氧化物(As_2O_3)俗稱砒霜是很早就被使用的一種毒藥，早在1940年以前，歐洲人就使用砷的化合物當做農藥用以驅除有害葡萄生長的蟲類和嚙齒動物，在農業殺蟲劑使用砷酸化合物如砷酸鉛(lead arsenate)是一種常使用殺菌劑和殺蟲劑。在染料工業上，也有使用砷化物作為色素例如：Scheele Green的亞砷酸銅(copper arsenite)及Schweinfurt Green的醋酸砷銅(copper arsenite acetate)⁽⁷⁾。

急性的砷中毒通常只發生在口服過多砷化物，其症狀為噁心、嘔吐、腹瀉、口乾舌燥及腹部疼痛。慢性的砷中毒則為長期暴露在低劑量含砷化物所造成結果，通常的症狀為身體虛弱、肌肉酸痛⁽⁸⁾。最近在生化毒理上的研究發現砷具有致癌性；皮膚、表皮細胞如長期接受砷化物的刺激，則會使得皮膚過度角質化皮膚細胞不正常發展，並且會進一步發展成為惡性腫瘤(malignant tumor)。受到砷毒的影響也會使得神經節細胞(ganglion cells)和fibers of medulla oblongata退化，造成多發性神經炎(polyneuritis)⁽⁹⁾。如果砷毒吸入肺中，同樣地也會誘導肺癌的發生⁽¹⁰⁾。

材料與方法

一、貝類中藥材

貝類中藥材包括珍珠、牡蠣、石決明及瓦楞子，皆購自迪化街中藥藥材行。

二、藥品

硫酸,97%GR級；硝酸,65%GR級；過氯酸,70%GR級；鹽酸,37%GR級；硼氫化鈉,GR級；碘化鉀,GR級；砷標準品,1000± 3μg/ml,將砷溶於0.1M HNO₃溶液中, Lot# 290302,皆為德國Merck 公司產品。海底沉積物之標準參考品 Marine sediment PACS-1, 購自加拿大國科會，其微量元素含量如表一所示。

三、實驗方法

(一)消化方法⁽¹¹⁾

貝類中藥材之消化方法係以Roschnik 之方法而稍加修正，其步驟如下：精稱中藥材樣品1g 置入250ml圓底燒瓶中，先加入5ml 97%濃硫酸和10 ml 65%濃硝酸，裝上冷凝管置於加熱板(Model PC-520, Corning Co., U.S.A.)上，並將溫度調整到350°C，進行迴流及消化。此時可看到紅棕色二氧化氮氣體徐徐自冷凝管冒出，約經四小時消化，圓底燒瓶不再有紅棕色氣體冒出，再加入10ml 70%

過氯酸，並將消化溫度調整為450°C，繼續迴流14小時，關閉加熱板，待整個消化系統冷卻後，以去離子水沖洗冷凝管管壁，拆下消化裝置，以100ml定量瓶定量後，以濾紙(Whatman No. 1001110, Whatman Co., England)過濾消化過程中無法去除之不可溶部份，過濾後之澄清液再進行氫化。

(二)消化液中砷之氫化：

樣品經消化後，砷則以正三價之arsenite 及正五價之arsenate 存在於溶液中，由於As⁵⁺不易被硼氫化鈉還原成AsH₃，因此在進行原子吸收光譜儀分析前，取經消化處理後的樣品水溶液5ml加入5ml 10%的碘化鉀溶液和5ml 6N 鹽酸以及5ml去離子水，在此低pH值環境下As⁵⁺遂被I⁻離子還原成As³⁺⁽¹¹⁾。As³⁺在氫化物產生器(hydride generator, Model HFS-2, Hitachi Co., Japan)中與硼氫化鈉反應生成砷陰離子以後，以鈍性氣體氬氣攜帶導引到石英槽中，經氬氣火燄燃燒後AsH₃產生一特定吸收態，以原子吸收光譜儀(atomic absorption spectrophotometer, Model Z-8000, Hitachi Co., Japan.)定砷之量。

陰離子生成原子吸收光譜法，其優點在於鈍性氣體很迅速地將砷陰離子送到石英槽中進行光譜分析，可減低因擴散而造成的稀釋，且砷陰離子在定量分析上具較好的敏感性，對微量的砷有較高的精確性。

(三)原子吸收光譜分析條件：

波 長(Wave length)	197.3 nm
燈管電流(Lamp current)	10.0 mA
狹縫寬度(Slit width)	0.7nm
空氣流速(Air flow rate)	15.5 l/min
氬氣流速(Argon flow rate)	450 ml/min
火 燄(Flame)	H ₂ -Ar
氫氣流速(Hydrogen flow)	9.4 l/min

Table 1. The trace element contents of sediment standard reference PACS-1 provided by National Science Council of Canada

Component	Content(mg/kg)	
Antimony	171	±14
Arsenic	211	±11
Cadmium	2.38	±0.20
Chromium	113	±8
Cobalt	17.5	±1.1
Copper	452	±16
Lead	404	±20
Manganese	470	±12
Mercury	45.70	±0.16
Molybdenum	12.3	±0.9
Nickel	44.1	±2.0
Selenium	1.09	±0.11
Strontium	277	±11
Tin	41.1	±3.1
Vanadium	127	±5
Zinc	824	±22

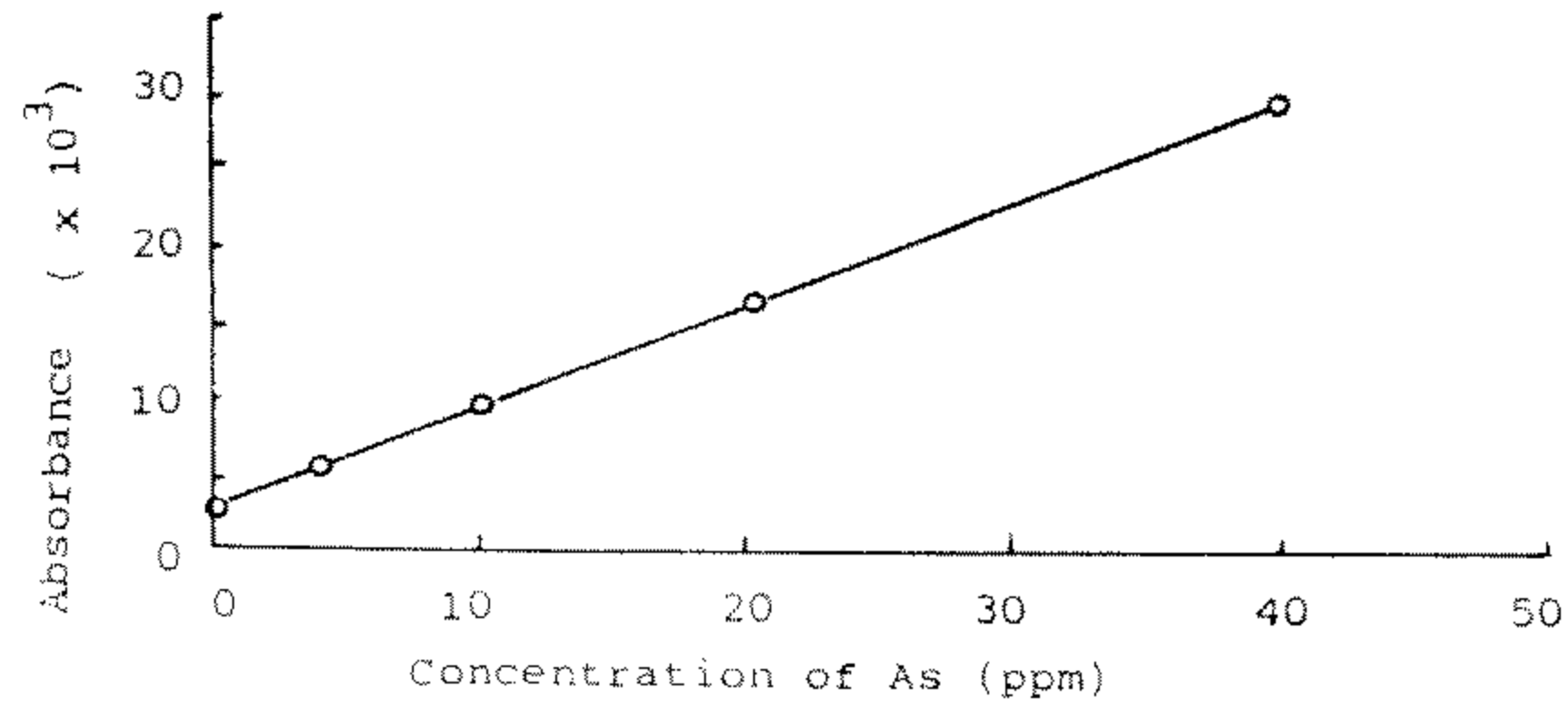


Figure 1. Standard curve of arsenic

Table 2. Recovery of arsenic

Digestion ^a method	Wt. of Sample ^b (g)	Frecuence (n)	Recovery (%)
A	0.20	3	83.5±0.1
A	0.10	3	65.9±0.1
A	0.02	3	51.5±1.4
A	0.01	3	53.5±3.7
B	0.20	3	14.3
C	0.20	3	23.2

^aA : This method. (Acids used = H₂SO₄: 5 ml; HNO₃: 10 ml; HClO₄: 10 ml).
B : Terashima,1976.(Acids used = HNO₃: 4 ml; HClO₄: 7 ml; HF: 8 ml; KMnO₄: 2%, 15 ml).
C : Saito, et al., 1988. (Acids used = HNO₃: 2.5 ml; H₂SO₄: 2.5 ml; HCl: 5 ml).
^bSediment standard reference PACS-1 provided by National Science Council of Canada.

Table 3. Blank, limit of detection, limit of quantitation for the determination of arsenic

Frecuence (n)	Blank (ppb)	Standard deviation (ppb)	LOD ^a (ppb)	LOQ ^b (ppb)
3	3.29	0.33	4.28	6.59

^aLOD : Limit of detection, Blank + 3 x Standard deviation
^bLOQ : Limit of quantitation, Blank + 10 x Standard deviation

結 果

一、回收率之探討

本實驗採用之樣品為加拿大國科會製備之海洋沉積物樣品。其砷含量為211±11mg/kg依上述消化、氫化及及原子吸收光譜法進行分析,0.2 g、0.1 g、0.02 g、0.01 g 之標準品,其回收率介於百分之八十四與五十二之間,砷的濃度越高則回收率亦愈高。本實驗亦同時將Terashima⁽¹²⁾及 Saito et al⁽¹³⁾之方法進行回收率之檢測,結果示如表二。

二、方法偵測極限及定量極限^(14,15)

實驗室環境、器皿清潔與否、藥品純度、操作技術及習慣,都可能影響實驗結果之可信度。故每次實驗進行時應先進行空白試驗,以確保分析結果之可信度。空白試驗所得空白值大小,直接影響分析方法的偵測極限(Limit of Detection, LOD)與定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)。為避免樣品測得濃度與空白值太接近時,無法判斷所得實驗值為背景值或為待測物濃度,IUPAC(International Union of Pure and Applied Chemistry)定義空白

測試所得平均值加上三倍空白值之標準偏差為偵測極限,偵測極限以上之數據具有99.86%的可信度,而太接近偵測極限之數據則缺乏可信度。所以ACS (American Chemical Society)附屬之環境分析化學委員會(ACS Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry)建議定空白值加上十倍空白值平均偏差值為定量極限。當樣品數據大於LOQ時方為可信數據,當測量數據介於LOD與LOQ之間稱為低可信數據,當數據低於LOD時稱為不可信數據。

由每次砷分析所得空白值及標準偏差依美國化學協會之規定,計算得空白值為3.29 ppb,方法偵測極限值為4.28 ppb,定量極限值為6.59 ppb,詳細數值如表三所示。

三、樣品檢量線

將1000 ppm之砷儲備標準溶液以2%的稀硝酸稀釋成不同濃度之溶液,測定其吸光度。以砷濃度對吸光度作圖得如圖一之檢量線。由樣品所得吸光值,依標準溶液所測得檢量線,利用內插法即可計算出樣品之含砷量。

四、樣品分析結果

以四種市售海產貝類中藥材為樣品,進行砷含量分析,其結果含量分別為珍珠4.45 ppm、石決明1.93 ppm、瓦楞子5.28 ppm、牡蠣3.41 ppm(表四)。

討 論

一、原子吸收光譜分析

目前有多種分析方法應用於砷的定量分析,如石墨爐原子吸收光譜法、蒸氣生成原子吸收光譜法(Vapor generation atomic absorption spectrometry)、氫化物產生器原子吸收光譜法,其中氫化

Table 4. Arsenic content in shell-medicament

Shell-medicament	Weight (g)	Frequence (n)	As content (ppm)
Pearl	1.0	3	4.45±0.02
Shijueming	1.0	3	1.93±0.01
Walengji	1.0	3	5.28±0.02
Muli	1.0	3	3.41±0.01

Table 5. Heavy metal contents of some sea food⁽²²⁾

Sea Food	As (ppm)	Hg (ppm)	Pb (ppm)
Tangle	56.7	0.02	0.92
Green laver	0.05	0.01	1.19
Agar	1.13	0.03	1.09
Flatfish	5.66	0.01	0.10
Sardine	2.35	0.04	0.05
Mackerel	1.30	0.14	0.15
Tuna	1.01	0.77	0.19
Sea eel	1.25	0.03	<0.05
Pacific saury	2.25	0.14	0.30
Sebastiscus marmoratus	1.30	0.10	0.11
Pollack	4.90	0.29	<0.05
Hair tail	0.95	0.21	0.19
Octopus	2.80	0.04	0.15

Table 6. Safe uptake amount of shell-medicament for arsenic

Shell-medicament	PTDI ^a (mg/kg/day)	As content (μg/g)	Safe uptake amount ^b (g/kg/day)
Pearl	0.05	4.45	11.2
Shijueming	0.05	1.93	25.9
Walengji	0.05	5.28	9.5
Muli	0.05	3.41	14.7

^aPTDI : Pervasional tolerable daily intake, mg/kg body wt. /day (WHO)

^bSafe uptake amount of shell-medicament for arsenic, g/kg body wt./day = PTDI/As content

物產生器原子吸收光譜法對微量砷的分析有相當高的精確度,且進行分析時不會讓砷化物任意散佈於空氣中,對分析者及環境較不會造成不良影響(16-19)。

二、消化過程

本研究並沒有就消化方法上做學理上的探討,僅以目前文獻上所發表的幾種方式比較後選擇對標準品有較高回收率之消化方法而稍加修改。消化方法文獻上有開放式消化、密閉式消化及微波消化等三種方法。Terashima以開放式消化法對沉積物及岩礦等進行消化,並且在消化過程中加入過錳酸鉀使砷在消化過程中以不揮發的砷化物存在,令其不致在消化過程中揮發。但經以相同方法對標準參考樣品進行消化,其結果並不如文獻上所述有百分之九十以上的回收率,如以密閉式消化法進行消化時則所得回收率高出甚多(表二)^(11,20)。

Cervera對砷採用微波消化法進行砷的消化,不僅可縮短消化時間,且對微量砷(nanogram)消化後仍可有高的回收率,唯Cervera實驗上採用之樣品為食品⁽²¹⁾,其對於貝類外殼是否有相同的效果,有待進一步探討。

砷為高揮發性元素,容易揮發逸散,故消化時溫度之控制須小心,寧以較文獻上所敘述為低之溫度進行消化,雖所耗費時間較長但不致於因消化溫度過高,造成砷揮發逸出而造成誤差。

硫酸、硝酸、過氯酸等三種酸所提供的功用主要是將樣品中有機物氧化後較易由消化樣品中逸散出,以降低在原子吸收光譜儀定量時所造成的干擾,並提高測量的靈敏度與準確性,過氯酸具有爆炸的危險性因此在操作時須特別小心,以防不幸發生。就加入酸的量須考慮到消化樣品中有機物的多寡,如添加了過多的酸,則在消化過程中要花較多的時間將過多的酸趕跑。在一些含碳酸鈣的樣品消化所加入的酸有一部份作為碳酸鈣分解用。

三、食品中砷之含量

比較一些海產食品(以昆布的含量56.7 ppm為最高)和四種中藥材之砷之含量(以瓦楞子5.28 ppm為最高),發現砷的含量四種貝類中藥材比海產食品均為低⁽²²⁾(表五)。

四、安全攝取量

石決明、牡蠣、瓦楞子及珍珠等四種中藥材為海產貝類石灰質所構成硬殼,中藥上常用於口服之藥劑,唯中藥治療方式,常需長期服用方能達治療

效果,因此在用藥安全考量上,對於此四種藥材砷含量必需限制在安全攝取量以下。

將市售石決明、牡蠣、瓦楞子及珍珠等四種藥材砷含量,與聯合國世界衛生組織(World Health Organization, WHO)所公佈食物中砷含量對於單位體重每日攝取容許安全量做比較⁽²³⁾, (所謂單位體重每日安全容許攝取量即為每公斤體重每日所攝食的藥物或食物中所能容忍的最大量,超過此一攝食量,則對人體會造成毒害)結果如表六所示。由此一結果可看出,於正常情況下服用市售石決明、牡蠣、瓦楞子、珍珠等中藥材,每天每公斤體重甚少攝取超過10 g者,故尚不致造成砷中毒。

至於在中藥藥材服用前的炮製過程,一如食品的加工過程,可能會有不慎而造成污染的情況發生,故須慎防。而在牡蠣、石決明服用前以鹽水烹煮,以及珍珠服用前予以乳浸三日會對重金屬成份造成何種改變則有待進一步探討。

誌 謝

本研究承蒙中國醫藥研究所經費補助(計畫編號NRICM-81022),謹致謝忱。

參考文獻

1. Ashraf, M. and Jaffar, M. 1988. Trace Metal Content of Six Arabian Sea Fish Species Using a Direct Nitric Acid Based Wet Oxidation Method. *Toxicol. Environ. Chem.* 19 : 63-68.
2. Balkas, I. T., Tugrel, S. and Salhoglu, I. 1982. Trace Metal Levels in Fish and Crustacea from Northeastern Mediterranean Coastal Waters. *Mar. Environ. Res.* 6 : 281-289.
3. Tasubaki, T. and Irakuyama, K. 1977. Minamata Disease. pp. 23-46. Kodansha Ltd. Tokyo.
4. Sturgeon, R. E., Berman, S. S., Desaulniers, A., Russel, D. S. 1980. Pre-concentration of Trace Metals from Determination by Graphite-furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chem.* 52 : 85-94.
5. Tariq, J., Jaffar, M. and Moazzam, M. 1991. Concentrations Correlations between Major Cations and Heavy Metals in Fish from The Arabian Sea. *Marine Poll.* 22 : 562-565.

6. Shaw, B. P., Sahu, A. and Panigrahy, A. K. 1986. Mercury in plants, Soil, and Water from a Caustic Chlorine Industry. *Bull. Environ. Contam. Toxcol.* 36 : 299-305.
7. Angelidis, M. and Grimanis, A. P. 1987. Arsenic Geochemistry in Sediments near the Athens Sewage Outfall. *Mar. Pollut. Bull.* 18 : 421-433.
8. Fishbein, L. 1984. Overview of Analysis of Carcinogenic and/or Mutagenic Metals in Biological and Environmental Samples I. Arsenic, Beryllium, Cadmium, Chromium and Selenium. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 17 : 113-170.
9. Yupa, S. and Poiret, M. C. 1988. Chemical Carcinogenesis : from Animal Models to Molecular Models in One Decade. *Advances in Cancer Research* 50 : 25-70.
10. WHO, 1977. Recommended Health-Based Permissible Levels in Occupational Exposure to Heavy Metals, Report to Study Group. Tech. Rept. Series No. 647, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
11. Roschnik, R. K. 1973. The Determination of Lead in Foods by Atomic Absorption Spectrophotometry. *Analyst* 98 : 596-604.
12. Terashima, S. 1976. The Determination of Arsenic in Rocks, Sediments and Minerals by Arsine Generation and Atomic Absorption Spectrometry. *Analytica Chimica Acta.* 86 : 43-51.
13. Saito, I., Oshima, H., Kawamura, N. and Yamada, M. 1988. Screening Method for Determination of High Levels of Cadmium, Lead and Copper in Foods by Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrometry using Discrete Nebulization. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71(4) : 829-832.
14. Gary, L. L. and Winefordner. 1982. Limit of Detection A Close Look the IUPAC Definition. *Anal. Chem.* 54 : 712A-724A.
15. Libby, R. A., Taylor, J. K. and Wentier, G. 1983. Principles of Environmental Analysis. *Anal. Chem.* 55 : 2210-2218.
16. Everson, R. J. 1975. A Modification in The Official Methods for the Determination of Metals in Foods and Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58 : 1.
17. Forehand, T. J., Dupuy, A. E. and Tai, H. 1976. Determination of Arsenic in Sandy Soils. *Anal. Chem.* 48(7) : 999-1001.
18. Lovell, M. A. and Farmer, J. G. 1983. The determination of Arsenic in Soil and Sediment Digests by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *J. Environ. Anal. Chem.* 14 : 181-192.
19. Magos, L. 1982. Nephrotoxicity : Assessment And Pathogenesis. pp. 325. John Wiley & Sons, Chichester.
20. Thomposon, A. J. and Thoresby, P. A. 1977. Determination of Arsenic in Soil and Plant Materials by Atomic Absorption Spectrophotometry with Electrothermal Atomic Absorption. *Analyst* 102 : 9-16.
21. Cervera, M. L., Navarro, A., Montoro, R. and Catala, R. 1989. Determination of Arsenic in Beer by Dry Ashing, Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2) : 282-285.
22. Somer E. 1974. The Toxic Potential of Trace Metals in Food, A Review. *J. Food Sci.* 39 : 215-217.
23. WHO, 1977. Environmental Health Criteria 1 : Arsenic. pp. 234-245. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Survey of Arsenic Contents in Shell-Medicament Used as Chinese Medicine

TZU-MING PAN, YEN-YU ZHEN, *CHIEN-CHIH CHEN AND **CHING-SHING WANG

National Institute of Preventive Medicine

**National Research Institute of Chinese Medicine*

***Ta-Jan Pharmaceutical College*

ABSTRACT

The shells of mollusks such as *Concha Haliotidis* (Shijueming), *Concha Arcae* (Walengzi), *Concha Ostreae* (Muli) and Pearl are used as ingredients in certain Chinese medicines. Such shells can accumulate heavy metals. Because arsenic is toxic to humans, an investigation of arsenic content in these medicaments is necessary to protect the health of humans.

The shells of mollusks were digested with diversified acids, and then surveyed by hydride generation atomic absorption spectrometry. The arsenic content was 4.45, 3.41, 1.93 and 5.28 ppm in Pearl, Muli, Shijueming, and Walengzi respectively. All were below the announced levels of safe and adequate daily dietary intake for humans.

Key Words : Arsenic, Shell-Medicament, Chinese Medicine, Atomic Absorption Spectrometry

