

关于水蛭药材砷元素超标原因的研究

王文祎 杨瑶琨 李梦 吕晓娜

【摘要】 目的 了解水蛭药材砷元素残留现状,探究砷元素在水蛭体内富集的影响因素。**方法** 通过对 3 组土壤养殖和 1 组清水养殖水蛭进行为期 60 天的模拟养殖,每 15 天采样一次,烘干、粉碎加工后采用电感耦合等离子质谱(ICP-MS)技术对水蛭药材砷元素进行检测,并采用 SPSS statistic 20 软件对检测结果进行分析。**结果** 水蛭药材砷元素含量超标现象普遍,威胁用药安全;各实验组别砷元素累积结果无明显差异,不同养殖方式水蛭药材的砷元素积累趋势大致相同。**结论** 水蛭药材砷元素残留随着养殖时间的增加而富集,这可能与养殖过程中的进食行为有关,而水蛭药材砷元素的主要来源可能是日常投喂时的饲料污染;不同养殖环境下水蛭药材砷元素累积含量不同,以泥土为基质饲养水蛭可能会促进水蛭体内砷元素的代谢,更有利于提高水蛭药材的安全性。

【关键词】 水蛭; 砷元素; 富集

【中图分类号】 R282.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.01.008

Study on the reason of medicinal leech arsenic residues exceeded the standard WANG Wen-yi, YANG Yao-jun, LI Meng, et al. School of traditional Chinese pharmacology, Beijing University of Chinese Medicine

Corresponding author: YANG Yao-jun, E-mail: yangyaojunbucmtcm@163.com

【Abstract】 Objective To understand the status of medicinal leeches residual elements As, explore factors As elements in the body leech enrichment. **Methods** Three groups of soil cultivation and a group of water breeding leeches for a period of 60 days of analog culture, sampled once every 15 days, drying, crushing and processing by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) technology for medicinal leech As elements testing, and the use of SPSS statistic 20 software on the test results were analyzed. **Results** As medicinal leeches over quantity, widespread drug safety threat; As the experimental groups showed no significant difference in the cumulative elements, accumulated in different farming medicinal leeches As elements of roughly the same trend. **Conclusions** As medicinal leech farming increases the residual elements of time and enrichment, which may be the breeding process of eating behavior, and the main source of medicinal leeches As elements might be contamination of feed daily feeding time; different culture environment as medicinal leech different content elements accumulate in the soil matrix may promote metabolic feeding leech leech as elements help to improve the safety of medicinal leeches.

【Key words】 Leech; Arsenic; Enrichment

水蛭为水蛭科动物蚂蟥 *Whitmania pigra*

作者单位: 100102 北京中医药大学中药学院中药鉴定系[王文祎(硕士研究生)、杨瑶琨、李梦(硕士研究生)、吕晓娜(硕士研究生)]

作者简介: 王文祎(1990-), 2013 级在读硕士研究生。研究方向: 中药动物药质量研究。E-mail: wangwenyi9068@163.com

通讯作者: 杨瑶琨(1969-), 女, 博士, 教授。研究方向: 中药品种及质量鉴定。E-mail: yangyaojunbucmtcm@163.com

Witman、水蛭 *Hirudo nipponica* Whitman 或柳叶蚂蟥 *Whitmania acranulata* Whitman 的干燥全体, 是一味传统药材, 目前市场上以蚂蟥(宽体金线蛭)用量最大。近年在水蛭临床多用于脑血栓、冠状动脉粥样硬化性心脏病的治疗^[1-3]。另据报道, 水蛭亦可用于痛风、小儿呼吸系统疾病、慢性肾脏病等疾病治疗^[4-6]。随着水蛭的功效不断被开发, 以水蛭为原料的中成药及保健品日渐增多^[7], 临床用量不断增

大,水蛭的药用安全应该逐渐受到重视,而中药材中砷含量超标也成为影响中药质量安全、制约中药出口的重要因素。

蚂蟥作为常用动物药,活体生长周期较长、生活环境复杂,药材安全易受有毒有害重金属元素砷的影响,本实验通过电感耦合等离子质谱(ICP-MS)技术测定不同省份水蛭药材、模拟水蛭生长环境养殖,了解水蛭药材砷元素污染现状、探究砷污染与水蛭日常生长的关系。

1 材料与方法

1.1 水蛭药材样品采集

笔者于 2014 年 9 月在河北安国药材市场进行考察取样,共采集不同省份水蛭药材样品 7 份,经北京中医药大学杨瑶珺教授鉴定,均为水蛭科动物蚂蟥 *Whitmania pigra* Witman 的干燥全体。

1.2 水蛭幼苗样品采集

笔者于 2014 年 10 月 20 日在山东微山湖水蛭养殖基地采集日龄 30 天蚂蟥(经杨瑶珺教授鉴定)青年苗 400 条,体质量为 2~4 g。

1.3 砷元素测定实验仪器

7700x 型电感耦合等离子质谱(ICP-MS 美国 Agilent 公司),CP2250D 型电子天平($d=0.001$ mg SARTORIUS 公司),Ultra WAVE 型微波消解系统(意大利 Milestone 公司),DFT-100 型手提式高速中药粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司)。

1.4 砷残留量的测定方法

砷的测定采用 ICP-MS 法测定。水蛭药材用粉碎机粉碎,过 3 号药典筛,准确称取样品约 0.5 g,加入 HNO_3 3.0 mL,微波消解,条件为:控制温度室温,时间 5 分钟;控制温度 150℃,时间 5 分钟;控制温度 190℃,时间 20 分钟。功率:1200 W,予加压(4 MPa);石英消解管消解,消解试剂为 HNO_3 : $\text{H}_2\text{O}_2=1:2$,以纯水定容 15 mL。消化液稀释 5 倍,上机测定,雾化其流量:1.0 L/min,辅助气流量:0.80 L/min,等离子体气流量:15.0 L/min,积分时间:300 秒,扫描方式:单点跳峰,同步制备空白溶液。

1.5 蚂蟥养殖实验方法与器材

100 W 型防爆加热棒、20 W 型制氧泵(广东西龙水族产品有限公司),60 cm×30 cm×35 cm 水族玻璃箱,LB-SM6 型电脑智能温控器(乐清朗本电器有限公司)。

实验在 4 个水族玻璃箱中进行,每箱随机投放水蛭 80 条,为真实模拟蚂蟥的生长环境,在其中 3 个水族箱底部铺厚度为 2 cm 的土壤作为养殖基质,分别设置为土壤养殖 1 组、土壤养殖 2 组、土壤养殖 3 组(结果图表中简称为土 1、土 2、土 3)。另一箱全程使用清水养殖作为对照(清水养殖),于 2014 年 10 月 22 日开始养殖,实验用水为自来水,定期更换部分养殖用水,水位高 17 cm,养殖温度控制在 21~23℃,电子温控器实时监控,定时定量投喂圆田螺,每天定时充氧 2 小时,定期清理饵料残渣,每天记录并清除死亡蚂蟥。

实验为期 60 天,每 15 天每箱采集水蛭 8~10 条,置烘箱 50℃ 低温烘干,粉碎过 3 号筛,采用 ICP-MS 技术测定每批水蛭药材粉末的砷含量,同时测定在药材市场采集的样品及基质土壤中砷元素的含量。

1.6 统计学处理

本实验采用 SPSS statistic 20 软件对检测结果进行分析。4 组养殖水蛭砷元素的结果采用方差分析法,经过方差齐性检验 4 组数据 P 值均大于 0.05,则方差齐,因此使用单因素方差处理数据,之后通过对不同日数水蛭砷含量的比较,分析 4 组养殖水蛭的砷残留相关性。

2 结果

2.1 药材市场检测结果

本实验结果分别以 2010 版《中华人民共和国药典》(一部)水蛭项下砷元素含量要求、《GB18406.4-2001 农产品安全质量-无公害水产品安全要求》《NY5703-2006 无公害食品水产品有毒有害物质限量》^[9]《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》^[10]作为参考依据。

药材市场采集水蛭砷含量检测结果详见表 1。

从表 1 的结果可以看出从药材市场采集的 7 份水蛭样品砷元素含量有 5 份超出《中华人民共和国药典》(2015 版)版药典标准,另 2 份样品的砷含量值也接近标准,而此结果与其他 3 个参考标准进行对比,则砷元素超标状况更加严重。

2.2 养殖水蛭砷含量检测结果

在对水蛭砷元素检测的同时,本实验还对养殖水蛭前后土壤中的砷含量进行检测。并与《GB18407.4-2001 农产品安全质量 无公害水产品产地环境要求》^[11]进行比较。

养殖水蛭砷含量检测结果详见表 2 和图 1。

表 1 安国药材市场采集不同产地水蛭砷含量检测结果与各项质量检测标准的比较 (μg/g)

水蛭组别与标准	砷
NY5703-2006 无公害食品水产品有毒有害物质限量	0.50
GB18406.4-2001 农产品安全质量-无公害水产品安全要求	0.50
药用植物及制剂进出口绿色行业标准	2.00
湖北产水蛭	3.81
江苏(连云港)产水蛭	4.45
中华人民共和国药典(2015 版)	5.00
湖北产水蛭	5.47
广东产水蛭	5.50
山东产水蛭	5.67
山东(微山湖)产水蛭	5.77
江苏产水蛭	6.06

表 2 不同日龄养殖水蛭砷含量检测结果 (μg/g)

检测日龄	土 1	土 2	土 3	清水养殖
初始含量	2.91	2.91	2.91	2.91
15 日龄水蛭	3.58	3.77	3.43	3.68
30 日龄水蛭	4.05	3.74	4.77	3.92
45 日龄水蛭	4.05	3.87	5.00	3.92
60 日龄水蛭	5.23	4.95	5.37	5.69

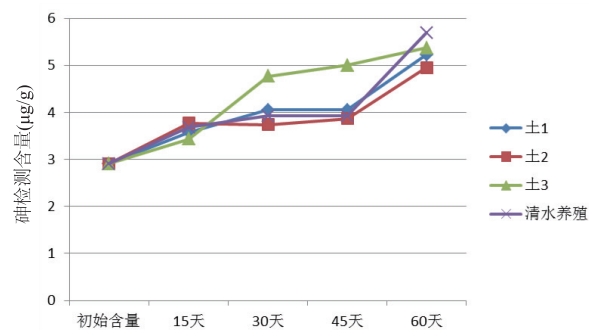


图 1 养殖水蛭砷含量检测结果

从表 2 可看出,水蛭药材砷元素含量与蚂蟥生长时间存在着一定的线性关系。作为同一批用于养殖实验的蚂蟥青年苗,初始砷元素含量为 2.91 μg/g,通过一段时间的养殖,清水养殖组和 3 组土壤养殖组的砷元素含量均得到不同程度的提高,其中土 1 组、土 2 组和清水养殖组在 45 天到 60 天时提高的幅度较大,土 3 组在 15 到 30 天时提高的幅度较大。三个土壤养殖组实验末期比实验初期砷元素含量分别提高了 79.7%、70.1%、84.5%,清水养殖组提高了 95.5%,此结果表明水蛭药材体

内的砷元素含量与蚂蟥的生长时间有关。

数据经单因素方差分析, F 值为 0.211<8.71, P 值为 0.887,数据差异不具有统计意义,说明水蛭体内砷元素残留均与时间有关,3 组土壤养殖组平行实验和清水养殖组结果趋于一致,说明 4 组模拟养殖水蛭药材砷元素累积趋势与时间的关系大致相同。

2.3 土壤中的砷元素在养殖前后的变化

养殖前后土壤中的砷含量发生变化,详见表 3。

通过对不同阶段的土壤测定可看出,三组土壤实验末期比实验初期砷元素含量分别提高了 20.3%、15.9%、23.8%,而通过对水蛭测定的结果表明,清水养殖组的砷元素含量要高于三组土壤养殖的残留。

表 3 养殖前后土壤中砷元素含量变化 (μg/g)

土壤中砷元素含量	土 1	土 2	土 3
养殖前土壤砷含量	7.55	8.03	7.49
养殖后土壤砷含量	9.08	9.35	9.27
GB18407.4-2001 农产品安全质量 无公害水产品产地环境要求	20		

3 讨论

3.1 水蛭药材砷元素残留现状

通过表 1 的结果可看出,采集的水蛭药材样品砷元素普遍超标,这将对患者的用药安全带来很大的威胁。此外,从表 2 中蚂蟥青年苗砷元素的初始含量也可看出,在养殖蚂蟥 60 天时,4 组蚂蟥的砷含量就已经超过或接近国家标准,而市场流通水蛭药材的蚂蟥养殖的时间通常是 60 天以上,由此可能会在水蛭药材体内累积更多的砷元素,加剧砷元素含量超标的现象。

3.2 砷元素的主要来源

蚂蟥以吸食动物的体液为主要生活方式,常以水中浮游生物、淡水螺贝类、蜗牛等软体动物作为饵料,因此本实验中水蛭药材砷元素的主要来源或许为被砷元素污染的田螺。通过实验期间对水蛭进食过程的观察笔者发现,蚂蟥在进食过程中,只钻进活田螺身体内部吸取里面的汁液,无法吸食田螺经常活动暴露在外肉质较厚的部分,所以对于蚂蟥吸食田螺的部分很难对砷含量进行准确测定,但通过土壤养殖组和清水养殖组的数据对比可发现,土壤养殖组的最终砷含量均低于清水养殖组,这或

许表明养殖土壤中的砷元素并非水蛭药材砷元素含量的主要来源,随着蚂蟥在生长过程中不断吸取含有砷元素田螺的体液,自身体内的砷元素含量也不断累积,造成砷元素污染状况越来越严重。

因此在日后的蚂蟥养殖过程中,应该加强对饵料质量的监督管理,尽量减少或避免因为饵料的污染导致蚂蟥体内砷元素的大量富集。

3.3 砷元素含量与养殖环境的关系

目前蚂蟥养殖主要分为以土为基质养殖和直接清水养殖,为探究水蛭药材中砷元素含量与养殖环境的关系,本实验设置了土壤养殖组和清水养殖组进行对比,其中土壤养殖组分别测定了养殖前和养殖后泥土内砷元素的含量。通过对蚂蟥日常生活的观察,笔者发现在土壤养殖组里的蚂蟥平日活动多在泥土里进行,而在泥土表面和水中活动相对较少,或许在这种更接近蚂蟥适合生活的环境中,蚂蟥可以在平日的活动中代谢出一些体内的砷元素,而土壤中砷元素的前后变化,以及清水养殖组中蚂蟥体内砷元素残留多于土壤养殖组或许能佐证这一点,因此在蚂蟥的养殖模式选择方面,以泥土为基质饲养或许对蚂蟥生长期间砷元素的控制更有利。

3.4 新版药典关于砷元素含量的规定

2015 版药典首次对水蛭药材重金属元素含量进行限量规定,这对于患者用药安全和中药规范使用有着积极的意义,但是笔者通过查阅相关规定发现,新版药典对于水蛭药材砷元素残留含量限定较为宽泛,通过表 3 可以看出,2015 版药典对于水蛭砷元素含量要求相较于下方的《GB18406.4-2001 农产品安全质量-无公害水产品安全要求》《NY5703-2006 无公害食品水产品有毒有害物质限量》《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》有着较大幅度的提升,分别是以上相关规定含量的 10 倍、10 倍、2.5 倍。砷元素残留较多是水蛭药材中比较普遍的一个问题,但是通过实验结果可看出造成水蛭砷元素累积的主要来源是日常投喂的饵料污染,这在蚂蟥的养殖过程中是可以尽量避免的,因此药典对于水蛭砷元素残留量的规定应该更加严格,以利于规范水蛭养殖、提高患者用药时的安全性。

4 总结

通过实验结果可看出,砷元素残留超标是水

蛭药材中较为普遍的一个问题,本实验通过对水蛭的模拟养殖初步探究了砷元素在水蛭体内富集的原因,而对于其他重金属元素在水蛭体内的富集因素同样值得进一步探究;本次实验的养殖周期为 60 天,15 天为采样周期,虽然初步得到养殖时间与砷元素含量的关系,但是在今后的实验中有必要延长养殖时间,深入探究养殖时间与砷元素含量的关系,同时缩短采样周期,或许可以确定最能控制砷元素含量的养殖时间;水蛭药材的主要有效成分为抗凝血酶成分,目前对于水蛭中抗凝血酶效价及重金属元素的关系鲜有研究,而水蛭又是一味有小毒的中药^[1],或许其抗凝血酶效价与水蛭的毒性有关,值得对水蛭的抗凝血酶效价和重金属残留的关系进行进一步探究;通过实验室内水族玻璃箱养殖可直观清楚地了解蚂蟥的日常活动,通过研究蚂蟥的生长习性来选择适合蚂蟥生长的条件,也许会给水蛭药材的安全评价、质量评价带来积极的影响。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会.《中华人民共和国药典》(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:77-78.
- [2] 刘晓帆,杨瑶琨,吴丽洁,等. 中药水蛭生药学与化学成分的研究进展与展望[J]. 环球中医药,2012,5(8):637-640.
- [3] 于海青. 复方水蛭胶囊治疗冠心病心绞痛 112 例[J]. 光明中医,2012,27(11):2228-2229.
- [4] 任耀全,周维维,石宗珂,等. 水蛭在儿科的临床应用进展[J]. 中医儿科杂志,2013,9(5):63-65.
- [5] 徐惟永,邓彰恂,苏承武,等. 水蛭生物治疗痛风的效果观察[J]. 蛇志,2014,26(1):28-29.
- [6] 刘盛娟,舒惠荃,张骁. 水蛭治疗慢性肾脏病的应用[J]. 吉林中医药,2012,32(9):924-925.
- [7] 郭巧生,刘飞,史红专. 水蛭及其养殖基地农药与重金属残留分析[J]. 中国中药杂志,2006,31(21):1763-1765.
- [8] 张卫,张瑞贤,李健,等. 中药水蛭品种考证及资源可持续利用发展探讨[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):914-918.
- [9] 中华人民共和国农业部. NY 5073-2006 无公害食品水产品中有毒有害物质限量. 2006-01-26.
- [10] 中华人民共和国商务部. WM/T 2-2004 药用植物及制剂外经贸绿色行业标准. 2005-02-16.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 18407.4-2001 农产品安全质量 无公害水产品产地环境要求. 2001-08-16.

(收稿日期: 2015-03-18)

(本文编辑: 禹佳)