

液相-原子荧光光谱法测定食品中无机砷

林长钦, 黄朝耿, 周雷 (广东省中山市质量计量监督检测所, 广东中山 528400)

摘要 [目的]准确测定食品中的无机砷。[方法]采用液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)以及砷形态快速分析Princen柱和在线氢化物反应系统对食品中的砷进行检测。[结果]该方法对检测质量浓度为5 μg/L的As(Ⅲ)和As(V)标样,系统具有更高的检测灵敏度,检出限可以分别达0.98和2.88 μg/L。该方法在5.0~100.0 μg/L范围内的无机砷检测具有良好的线性,相关系数均可达0.999以上,加标量为10 μg/L的回收率在95%以上。[结论]该方法是测定食品中无机砷含量的一种高效、低消耗的方法,在实际样品的无机砷检测中也表现出良好的效果,非常适合无机砷的检测。

关键词 液相-原子荧光光谱法;无机砷;砷形态快速分析柱;在线氢化物反应系统

中图分类号 TS 207.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)03-0101-03

Determination of Inorganic Arsenic in Food by Liquid Chromatography-Atomic Fluorescence Spectrometry

LIN Chang-qin, HUANG Zhao-geng, ZHOU Lei (Zhongshan City Quality Supervision and Inspection Institute, Zhongshan, Guangdong 528400)

Abstract [Objective] To determine the inorganic arsenic in food accurately. [Method] The liquid chromatography-atomic fluorescence, the fast analytical Princen column and on-line hydride reaction system were employed to determine arsenic in food. [Result] The detection limits of this method were 0.98 and 2.88 μg/L for 5 μg/L As(Ⅲ) and As(V) standard samples, respectively showing higher detection sensitivity. The calibration curves of method showed good linearity with linear correlation coefficient 0.999 for both As(Ⅲ) and As(V) detection in the range of 5.0-100.0 μg/L. The recovery of the method was more than 95% under 10 μg/L. [Conclusion] This method is high efficiency and low consumption for detection of inorganic arsenic, which is suitable for the inorganic arsenic detection.

Key words Liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry; Inorganic arsenic; Fast analytical Princen column; On-line hydride reaction system

砷作为常见的有毒有害元素,一直备受人们关注。人体若摄入过多砷可引起急性中毒,长期低剂量暴露可引起慢性砷中毒,诱发各种皮肤病并可能导致肝肾功能受损,甚至导致癌症。砷在自然界中以无机和有机的形式存在,其毒性与其存在形态密切相关,不同形态的砷毒性相差甚远。无机砷化合物毒性极强,如砷酸盐[As(V)]、亚砷酸盐[As(Ⅲ)]^[1];有机砷如甲基化的有机砷毒性远低于无机砷化合物,砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)则被研究认为无毒^[1-2]。因此,为了真实反映食品中砷的安全性,对砷元素的各种形态进行有效分离,然后再进行检测是非常必要的。国家卫生和计划生育委员会于2015年9月发布了《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》^[3]国家标准,该标准对食品中无机砷的测定主要采用液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)^[4-11]和液相色谱-电感耦合等离子质谱法(LC-ICP-MS)^[12-15]2种方法,但这2种方法均存在样品分析时间长、载液消耗量大等缺点。

该试验的研究方法是在国家标准中液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)的基础上,采用砷形态快速分析柱(Princen色谱柱)和在线氢化物反应系统,选择合适的色谱分离条件、氢化物发生条件和测量参数,对该方法进行测量评价。结果表明,该方法的分离效果、灵敏度及信噪比均符合检测要求,并且大大缩短了样品分析时间,节约了载液的消耗量。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂。氩气,纯度99.999%,珠海大亚湾气体公

司;100 mg/L As(Ⅲ)、As(V)标准储备溶液,国家标准物质中心;NH₄H₂PO₄分析纯、甲酸、KBH₄、KOH,均为分析纯,广州化学试剂厂。

1.1.2 主要仪器。RODI型反渗透去离子纯水机,法国Mili-pore公司;液相色谱-原子荧光(LC-AFS),北京吉天仪器有限公司;联用Prin-Cen液相色谱,使用的柱子分别为美国汉密尔顿生产的PRP-X100色谱柱及广州谱临晟科技有限公司生产的Princen色谱柱;pH计,美国热电-奥立龙。

1.1.3 标准溶液。As(Ⅲ)、As(V)标准溶液:100 mg/L As(Ⅲ)、As(V)标准储备溶液从国家标准物质中心购得。试验中分别准确吸取0.10 mL 100 mg/L的As(Ⅲ)和As(V)标准储备溶液,以超纯水定容至10 mL,摇匀,得到1.0 mg/L的As(Ⅲ)、As(V)混合标准储备溶液,并取该混合标准储备溶液0、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mL于10 mL容量瓶中,以超纯水定容,得到系列浓度为0、5.00、10.00、20.00、50.00和100.00 μg/L的标准曲线溶液,该储备溶液和标准曲线溶液均是现配现用。

1.1.4 流动相。LC流动相为NH₄H₂PO₄溶液,pH用4%甲酸调节。流动相使用之前需经过0.45 μm滤膜过滤。KBH₄溶液用0.5% KOH当日配制。

1.2 方法 整套操作系统由3部分组成。分离LC部分包括德国进口的液相色谱泵头,串联式双柱塞往复泵,采用全PEEK流路连接,并配有XYZ三维电机驱动的自动进样器,可满足0.10~300.00 μL样品进样量及准确定量要求。在线氢化物反应系统中,HCl和KBH₄作用后,KBH₄水解产生活性氢,活性氢把色谱流出物中的三价砷、五价砷还原成AsH₃,生成的氢化物在气液分离器中被分离,气体进入原子荧光的原子化器(炉子)被激发出荧光从而被检测。测定部

作者简介 林长钦(1980—),男,广东汕头人,工程师,从事食品中有毒物质研究。

收稿日期 2016-11-16

分由 AFS-920 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司)完成,在仪器里使用的激发光源是高性能铍空心阴极灯(北京有色金属研究总院)。Prin-Cen 液相色谱工作站兼容 AFS-920 原子荧光光度计,实时采集数据并显示色谱图,采集完成后自动计算各组分的浓度(三价砷和五价砷)和总浓度(无机砷)。

色谱条件:Princen 色谱柱(As Spec Fast Column,4.6 mm×50.0 mm×5.0 μm);Princen 保护柱(As Spec Guard Column,4.6 mm×50.0 mm×10.0 μm);流动相为 15 mmol/L NH₄H₂PO₄(pH 7.0);流速 1.2 mL/min;进样体积 100 μL。

原子荧光检测条件:高性能铍空心阴极灯,193.7 nm;负高压 280 V;灯电流 60 mA;载气为氩气,流速 400 mL/min;屏蔽气为氩气,流速 800 mL/min。

氢化物发生条件:还原剂为 30 g/L KBH₄,流速 4 mL/min;载液为 20% HCl,流速 4 mL/min。

2 结果与分析

2.1 不同色谱柱的分离结果 分别采用目前常用的汉密尔顿色谱柱(Hamilton PRP-X100)和 Princen 色谱柱对同一浓度(100 μg/L)无机砷标准品进行分离处理,测定分离结果见图 1,相关的统计结果见表 1。由图 1、表 1 可知,在采用 pH 7.0 的 15 mmol/L NH₄H₂PO₄ 流动相条件下,Princen 色谱柱可以更快地分离无机砷,其中 As(III)分离时间为 1.175 min,As(V)分离时间为 3.342 min,相比汉密尔顿色谱柱中 As(III)分离时间为 2.092 min 缩短 78.0%;As(V)分离时间为 7.342 min,缩短 119.7%,从而大大缩短样品分析时间,提高检测效率,节约样品分析过程中载液的消耗量。

2.2 信噪比和检出限的比较 采用 5 μg/L 无机砷标准品分别在汉密尔顿色谱柱和 Princen 色谱柱进行分离处理,计

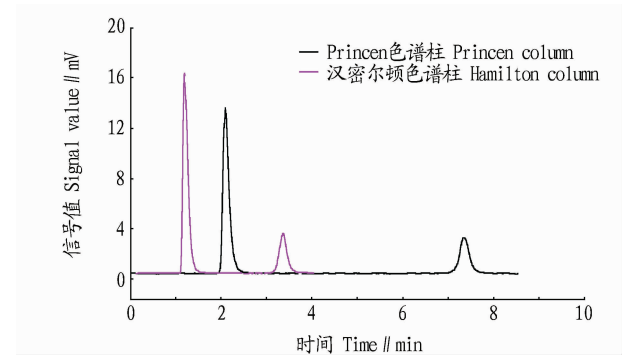


图 1 100 μg/L 的 As(III)、As(V)标准溶液在 Princen 色谱柱和汉密尔顿色谱柱中的分离谱图

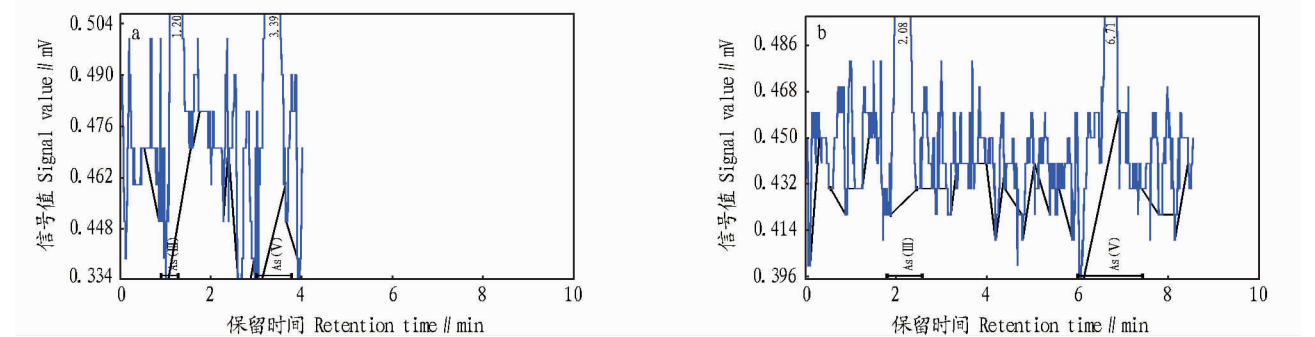
Fig. 1 Separate spectrum of 100 μg/L As(III) and As(V) standard samples in Princen column and Hamilton column

表 1 100 μg/L 的 As(III)、As(V)标准溶液在 Princen 色谱柱和汉密尔顿色谱柱中的分离结果比较

Table 1 Comparison of 100 μg/L As(III) and As(V) standard samples in Princen column and Hamilton column

柱子型号 Column model	保留时间 Retention time//min	名称 Name	浓度 Concentration μg/L	峰面积 Peak area	峰高 Peak height
Princen 色谱柱	1.175	As(III)	100	130 465	15 820
Princen column	3.342	As(V)	100	40 315	3 185
汉密尔顿色谱柱	2.092	As(III)	100	129 888	12 858
Hamilton column	7.342	As(V)	100	46 775	2 848

算在相同条件下的信噪比和检出限,相关结果见图 2 和表 2,其中检出限由 3 倍基线噪音的峰高计算得到。结果表明,采用 Princen 色谱柱具有更高的信噪比,更低的检出限,可以更好地提高检测灵敏度。



注:a 为 Princen 色谱柱;b 为汉密尔顿色谱柱
Note:a. Princen column;b. Hamilton column

图 2 2 种分离柱的信噪比谱图

Fig. 2 Signal-noise ratio spectrum of two separate columns

2.3 线性关系 精密吸取上述 100 μg/L 的标准储备液 0、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中,以水定容,得到系列浓度为 0.5.00、10.00、20.00、50.00、100.00 μg/L 的标准曲线溶液。分别用汉密尔顿色谱柱和 Princen 色谱柱对上述标准曲线溶液进样 100 μL,以标准物质的峰面积为纵坐标(y),浓度为横坐标(x),绘制标准曲线,相关结果见表 3。由表 3 可知,采用汉密尔顿色谱柱和 Princen 色谱柱建立的线性回

归方程线性关系良好,相关系数(r)均为 0.999 以上。

2.4 加标回收率试验 采用 Princen 色谱柱,称取粉碎研磨后的大米 1.00 g,加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液,放置过夜。于 90 ℃恒温箱中热浸提 2.5 h,每 0.5 h 振摇 1 min,保证样品中各种形态的砷能充分提取,取出后冷却至室温,8 000 r/min 离心 15 min,取上层清液,经 0.45 μm 有机滤膜过滤后用液相色谱仪进行砷形态分离,原子荧光定量检测,

并进行加标试验,结果见表 4。

表 2 5 μg/L 的 As(III)、As(V) 标准溶液在 Princent 色谱柱和汉密尔顿色谱柱中的信噪比和检出限

Table 2 Signal-noise ratio and detection limit of 5 μg/L As(III), As(V) standard solution in Princent column and Hamilton column					
柱子型号 Column model	保留时间 Retention time//min	名称 Name	浓度 Concentration μg/L	信噪比 Signal-noise ratio	检出限 Detection limit μg/L
Princent 色谱柱	1.200	As(III)	5	15.30	0.98
Princent column	3.392	As(V)	5	5.20	2.88
汉密尔顿色谱柱	2.083	As(III)	5	10.10	1.50
Hamilton column	6.717	As(V)	5	2.40	6.20

表 3 Princent 色谱柱和汉密尔顿色谱柱相关系数的比较
Table 3 Comparison of correlation coefficient of Princent column and Hamilton column

柱子型号 Column model	名称 Name	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient
Princent 色谱柱	As(III)	$y = 1\,293x + 904.4$	0.999 961
Princent column	As(V)	$y = 717.1x + 397.2$	0.999 020
汉密尔顿色谱柱	As(III)	$y = 1\,290x + 381$	0.999 924
Hamilton column	As(V)	$y = 466.9x + 220.8$	0.999 074

表 4 Princent 色谱柱试样加标回收试验结果
Table 4 Recovery test results of Princent column

试样序号 Serial No.	名称 Name	原有量 Original amount μg/L	加入量 Added amount μg/L	测定总量 Total measured amount μg/L	回收率 Recovery %
1	As(III)	6.4	10.0	16.1	97
2	As(V)	4.3	10.0	13.8	95
3	As(III)	ND	10.0	9.8	98
4	As(V)	ND	10.0	9.6	96

由表 4 可知,测定试样回收率均在 95% 以上,其中 As(III)回收率在 97% ~ 98%,As(V)回收率在 95% ~ 96%。因此该方法测定食品中 As(III)和 As(V)的准确度较高,完全可以满足试验要求。

2.5 部分食品中 As(III)、As(V)和无机砷的测定结果 为了验证该方法对实际样品的检测,该试验选取了几种代表性的食品在 Princent 色谱柱上进行相关的检测试验,结果如表 5 所示。可以看出,利用 Princent 色谱柱和在线氢化物反应系统的 LC-AFC 方法测得实际样品的不同形态的砷以及总量与实际符合,表明该方法切实可行。该方法可以快速地分辨出 As(III)、As(V)和无机砷的总量,非常适合日常砷的检测,在后续的食品检测中具有较大的实用性以及应用前景。

3 结论与讨论

该研究探讨了采用 Princent 色谱柱和在线氢化物反应系

表 5 Princent 色谱柱不同试样试验结果
Table 5 Test results of different samples by Princent column

食品 Food	As(III)	As(V)	无机砷总量 Total amount of inorganic arsenic
紫菜 Laver	1.22	0.11	1.33
海带 Kelp	0.53	0.03	0.56
鲮鱼罐头 Dace can	0.13	ND	0.13
金枪鱼罐头 Tunnies can	0.05	ND	0.05

统建立的液相原子荧光光谱法测定食品中不同形态的砷 As(III)和 As(V)。该方法具有分析时间短、载液及还原剂等试剂消耗量少、精密度高、回收率高等特点,是检测食品中不同形态的无机砷的有力工具,可为各级产品质量监督管理部门提供有力的技术支撑,为广大消费者提供技术保障。

参考文献

[1] GRAIG P J. Organometallic Compounds in the Environment [M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 1986.

[2] 韦昌金, 刘舜欣. 离子色谱氢化物发生原子荧光法测定地下水中砷形态[J]. 现代仪器, 2006(4): 31-34.

[3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定: GB 5009.11—2014 [S/OL]. [2016-08-12]. <http://doc.mbalib.com/view/8407c1cc5dc8a5dd9179331c61e373d8.html>.

[4] MATO-FERNÁNDEZ M J, OTERO-REY J R, MOREDA-PIÑEIRO J, et al. Arsenic extraction in marine biological materials using pressurized liquid extraction [J]. Talanta, 2007, 71(2): 515-520.

[5] 陈少波, 余雯静, 赵玉兰. 食品中砷形态分析及无机砷测定[J]. 农产品加工(学刊), 2013(4): 80-81.

[6] 黄亚涛, 毛雪飞, 杨慧, 等. 高效液相色谱原子荧光联用技术测定大米中无机砷[J]. 广东农业科学, 2013, 40(12): 117-121.

[7] 曹军, 于伯华, 沈山江, 等. 高效液相色谱-原子荧光光谱联用技术测定水产品产地底泥中 4 种砷的形态残留[J]. 检验检疫学刊, 2013, 23(5): 53-56.

[8] 吴烨飞, 潘友浩, 李荣茂. 高效液相色谱-氢化物-原子荧光联用技术测定海藻中无机砷[J]. 福建水产, 2014, 4(2): 125-131.

[9] 田雨, 蔡漩, 郑锡波, 等. 高效液相色谱-氢化物发生-原子荧光光谱法分析柱中砷形态化合物的检测方法[J]. 化学工程师, 2014, 28(2): 19-21.

[10] 高鹭, 董伟峰, 彭心婷, 等. 高效液相色谱氢化物发生原子荧光光谱联用检测海藻中砷形态[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(1): 145-151.

[11] 吴思霖, 于建, 王欣美, 等. 高效液相色谱-原子荧光联用技术测定水产品中无机砷[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2658-2662.

[12] NAM S H, OH H J, MIN H S, et al. A study on the extraction and quantitation of total arsenic and arsenic species in sea food by HPLC-ICP-MS [J]. Microchem J, 2010, 95(1): 20-24.

[13] 刘桂华, 汪丽. HPLC-ICP-MS 在紫菜中砷形态分析的应用[J]. 分析测试学报, 2002, 21(4): 88-89.

[14] 李卫华, 王雅珍, 刘玉海. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱检测海藻中的砷[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2006, 34(4): 65-68.

[15] LIU X P, ZHANG W F, HU Y N, et al. Extraction and detection of organo-arsenic feed additives and common arsenic species in environmental matrices by HPLC-ICP-MS [J]. Microchem J, 2013, 108(3): 38-45.

163(10): 68-70.

[11] 任丽娥, 黄光荣, 蒋家新, 等. 胰蛋白酶水解虾头壳制备钙结合肽的工艺条件优化研究[J]. 水产科学, 2011, 30(2): 107-111.

[12] 郑晓杰, 陈力巨, 王海棠. 调味虾头酱的研制[J]. 中国乳业, 2001(9): 18-19.

[13] 邓尚贵, 杨萍, 庞艳生, 等. 虾头酱的研制[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(10): 80-83.

(上接第 100 页)

[7] 韩晓洋, 郭小旬, 励建荣. 中国对虾调味料风味前体物质酶解制备工艺研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(4): 100-106.

[8] 任艳艳, 张水华. 虾头酶解及反应型虾味香料的研究[J]. 中国食品添加剂, 2005(6): 38-45.

[9] 谢超, 林琳, 唐君. 虾下脚料制备虾味香料的酶解工艺技术研究[J]. 肉类研究, 2009, 23(9): 40-43.

[10] 杜云建, 唐喜国, 陈鸣. 发酵调味虾酱的研究[J]. 中国酿造, 2006,