

HPLC-ICP-MS 法测定水产动物及其制品中 5 种砷形态的含量

Determination of five arsenic species in aquatic animals and their products by high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry

王林裴¹ 郑亚哲² 彭新然¹

WANG Lin-pei¹ ZHENG Ya-zhe² PENG Xin-ran¹

(1. 漯河出入境检验检疫局, 河南 漯河 462000; 2. 启迪桑德环境资源股份有限公司, 北京 101102)

(1. Luohe Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of P.R.C, Luohe, Henan 462000, China;

2. Beijing Sound environment Group Ltd., Beijing 101102, China)

摘要:建立了高效液相色谱(HPLC)和电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用法测定水产动物及其制品中的砷酸根[As(V)]、亚砷酸根[As(III)]、砷甜菜碱 AsB、一甲基砷(MMA)和二甲基砷(DMA)5种形态的砷。用 0.15 mol/L 的硝酸水溶液作为提取液,样品在 80 °C 下微波消解 30 min,上清液供 HPLC-ICP-MS 进行分析。5 种砷形态采用 Hanmilton PRX-X100(250 mm×4.1 mm, 10 μm)阴离子色谱柱分离,经 ICP-MS 检测。比较了不同的洗脱方式对 5 种砷形态的分离效果,研究了色谱条件对砷形态的分离度的影响并进行优化。通过加标回收试验考察了方法准确度,在 3 个加标水平上各形态的回收率为 87.8%~97.5%,试验测定得出相对标准偏差(n=6)均<5%,5 种砷形态在 0~100 μg/L 时呈现良好的线性,方法检出限为 0.002~0.010 mg/kg。结果显示,该方法提取简单、灵敏度高、重现性好,可用于水产动物及其制品中砷形态的检测。

关键词:微波消解;液相色谱—电感耦合等离子体质谱;水产;砷形态

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of arsenic acid [As(V)], arsenious acid [As(III)], arsenobetaine (AsB), monomethyl arsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA) in aquatic animals and their products by high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). The extraction reagent was 0.15 mol/L nitric acid with heat-assistant condition for 30 min at 80 °C. Then, the five arsenic species were separated by a anion ex-

change column (Hanmilton PRX-X100 250 mm×4.1 mm, 10 μm) and detected by ICP-MS. The effects of different elution methods on the separation of five arsenic forms were compared, and the chromatographic conditions on the separation of arsenic were studied and optimized. The recoveries of the five arsenic species spiked in aquatic animals at three levels ranged from 87.8%~97.5%, and the relative standard deviations (n=6) were 1.5%~4.5%. The five arsenic species showed good linearity in the range of 0~100 μg/L, and the limits of detection for the five arsenic species were 0.002~0.010 mg/kg. This method was simple, accurate and durable for the detection of arsenic species in aquatic animals and their products.

Keywords: microwave digestion; high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS); aquatic products; arsenic species

砷在自然界中广泛存在,在地壳所含元素的丰度中排第 54 位^[1]。随着工业的快速发展,包括矿业开采、化石燃料燃烧等人为活动,大量的砷进入到环境中,造成严重的砷污染问题^[2]。砷主要以 4 种价态(-III、0、III、V)存在,在生物地球化学循环过程以及在生物体内发生甲基化等过程,其化学形态发生了一系列变化^[3],主要以无机态的 As(III)和 As(V),有机态的一甲基砷酸(MMA)、二甲基砷酸(DMA)、砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)形式存在^[4]。

不同形态的砷其环境毒理学性质相差迥异,无机砷毒性高于有机砷,目前国内外仅对水产动物及其制品中无机砷限量作出规定,但有研究^[5]表明,有些有机砷可能与癌细胞活性有关,也具有一定的毒性。砷总量的测定已经不能够客观地对砷化合物的安全性作出评价^[6]。经过多年的发展研究,国内外主要采用联用方法对砷形态进行检测分析。用砷元

作者简介:王林裴(1989—),女,漯河出入境检验检疫局助理工程师,硕士。E-mail:13839513071@163.com

收稿日期:2017-08-30

素特征检测器如 AAS(原子吸收光谱仪)^[7-8]、AFS(原子荧光光谱仪)^[9-10]、ICP-AES(电感耦合等离子体发射光谱仪)^[11]、ICP-MS(电感耦合等离子体质谱仪)^[12-14]等与色谱分离手段联用,从而将不同形态的砷检测出来^[15]。气相色谱(GC)较适用于易挥发或中等挥发的有机金属化合物的分离,而且分离之前的衍生化步骤不仅使分离、分析过程复杂化,而且增加了待测元素形态丢失或玷污的可能性、毛细管电泳(CE)^[16]分离效率高,操作条件温和,但在分离过程中,样品在分析中的原始形态可能由于电解质或 pH 的调节而发生变化,样品的组成也会对 CE 分离造成一定影响,且 CE 与 ICP-MS 的对接问题不如 ICP-MS 成熟。

液相色谱因其极佳的分离能力和 ICP-MS 的高灵敏度,可采用阴离子交换柱来分离不同形态的砷、用 ICP-MS 检测^[17]。由于水产动物及其制品中有机砷通常含量较高,尤其是砷甜菜碱,此种形态砷不易与三价砷完全分离。本试验采用微波消解的方法对样品进行前处理,并且对微波消解条件进行优化,以选择对各种砷形态进行充分提取的最佳温度;采用 Hanmilton PRX-X100 阴离子色谱柱进行分离,并对色谱条件进行优化,使有机砷与无机砷完全分离,以避免各种砷形态检测的影响,从而建立一种新型的快速有效分离检测砷形态的方法,为相关食品的监管检验提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

亚砷酸盐 [As(III)] 标准品:GBW 08666, (75.7 ± 1.2) μg/g, 国家标准物质研究中心;

砷酸盐 [As(V)] 标准品:GBW 08667, (17.5 ± 0.4) μg/g, 国家标准物质研究中心;

一甲基砷 (MMA) 标准品:GBW 08668, (25.1 ± 0.8) μg/g, 国家标准物质研究中心;

二甲基砷 (DMA) 标准品:GBW 08669, (52.9 ± 1.8) μg/g, 国家标准物质研究中心;

砷甜菜碱 (AsB) 的标准品:GBW 08670, (38.8 ± 1.1) μg/g, 国家标准物质研究中心;

调谐溶液:500 ng/mL Li、Co、Yi、Ce、Tl 混合标准溶液, 2% 硝酸介质, 美国安捷伦科技有限公司;

乙醇:优级纯, 天津科密欧化学试剂有限公司;

氨水、乙二胺四乙酸、磷酸二氢铵:分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司;

硝酸:优级纯, 北京化工厂;

试验室用水:由 Milli-Q Advantage A10 系统制备的高纯水, 所用容器使用前均用 25% HNO₃ 溶液浸泡过夜。

1.2 仪器与设备

电感耦合等离子体质谱仪:Agilent 7700x 型, 美国安捷伦科技有限公司;

高效液相色谱仪:Agilent 1260 系列, 四元梯度泵, 美国安捷伦科技有限公司;

超纯水器:Mill-Q Advantage A10 系统, 美国 Millipore 科技有限公司;

超声清洗器:KQ5200DE 型, 中国昆山仪器有限公司;

恒温水浴振荡器:SHZ-88 型, 江苏省金坛市医疗仪器厂;

酸度计:PHS-3C 型, 上海雷磁仪电科学仪器股份有限公司;

分析天平:精度为 0.001 g, XPE205 型, 瑞士梅特勒-托利多科技有限公司;

微波消解仪:CEM MARS 6 ONETOUCH 型, 美国 CEM 公司。

1.3 溶液配制

1.3.1 硝酸溶液(0.15 mol/L) 量取 10 mL 硝酸, 溶于水并稀释至 1 000 mL。

1.3.2 流动相 流动相 A(25 mmol/L NH₄H₂PO₄ 溶液):称取磷酸二氢铵 2.876 g, 用水溶解, 并定容到 1 000 mL 容量瓶, 用氨水调节 pH 到 8.0, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 超声脱气 30 min; 流动相 B 为乙醇。

1.3.3 亚砷酸盐 [As(III)] 标准储备液(10 μg/mL, 以 As 计) 称取 0.132 g, 用水稀释定容至 10 mL, 避光保存在 4 °C 冰箱中。

1.3.4 砷酸盐 [As(V)] 标准储备液(10 μg/mL, 以 As 计) 称取 0.571 4 g, 用水稀释定容至 10 mL, 避光保存在 4 °C 冰箱中。

1.3.5 一甲基砷(MMA)标准储备液(10 μg/mL, 以 As 计) 称取 0.398 g, 用水稀释定容至 10 mL, 避光保存在 4 °C 冰箱中。

1.3.6 二甲基砷(DMA)标准储备液(10 μg/mL, 以 As 计) 称取 0.198 g, 用水稀释定容至 10 mL, 避光保存在 4 °C 冰箱中。

1.3.7 砷甜菜碱(AsB)标准溶液储备液(10 μg/mL, 以 As 计) 称取 0.257 g, 用水稀释定容至 10 mL, 避光保存在 4 °C 冰箱中。

1.3.8 混合标准使用液(1.0 μg/mL) 准确移取亚砷酸盐 [As(III)]、砷酸盐 [As(V)]、一甲基砷 (MMA)、二甲基砷 (DMA) 和砷甜菜碱(AsB) 5 种标准储备液各 0.1 mL, 用水稀释定容至 10 mL。

1.3.9 混合标准工作液 分别移取混合标准使用液 0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mL 于一组 10 mL 容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 得到以上 5 种砷形态的浓度分别 0, 10, 20, 40, 80, 100 μg/L 的混合标准工作液。

1.4 试验方法

1.4.1 仪器条件

(1) ICP-MS 工作条件:功率 1 550 W, 玻璃同心雾化器, 石英雾化室, 半导体控温于 (2 ± 0.1) °C, 石英矩管, 2.5 mm 中心通道, 屏蔽矩, Pt 采样锥和截取锥, 载气流量:1.02 mL/min, 补偿气 0.15 mL/min, 采样深度:7.5 mm, 采集质量数:砷 75, 氯 35; 分析时间 10 min, 峰面积定量载气(氩气)纯度 ≥ 99.99%。

(2) 色谱条件:色谱柱为 Hanmilton PRX-X100

(250 mm×4.1 mm, 10 μm), 流动相 A (25 mmol/L NH₄H₂PO₄ 溶液, pH 8.0): B(乙醇)=99:1(体积比), 流速 1.0 mL/min; 进样量 50 μL, 柱温 25 °C。

1.4.2 样品前处理 将样品混匀打碎后称取 1.0 g(精确至 0.001 g)左右, 置于微波消解罐中, 加入 20 mL 0.15 mol/L 的硝酸溶液, 设置微波辅助条件, 在 80 °C 提取 30 min。待处理完毕后, 取出冷却至室温。经萃取后将所得溶液于 8 000 r/min 离心 15 min, 取 5 mL 上清液至离心管中, 加 5 mL 正己烷, 振摇 1 min 后, 8 000 r/min 离心 15 min, 弃去上层正己烷, 此过程重复 1 次。吸取下层清液用 0.45 μm 有机滤膜过滤及 Bond Elut C₁₈ 柱净化后进样, 按相同方法作样品空白。

1.5 砷形态含量的计算

试样中的砷形态含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000}, \quad (1)$$

式中:

X——试样中不同砷形态的含量, mg/kg;

f——稀释因子;

c——测定液中不同的砷形态的质量浓度, μg/L;

c₀——空白溶液中不同砷形态的浓度, μg/L;

V——加入提取剂的体积, mL;

1 000——换算系数;

m——称样量, g。

1.6 试验条件的优化

1.6.1 色谱条件的优化 由于流动相对砷形态的分离效果影响程度较大, 因此试验通过控制变量法, 研究流动相洗脱方式、流动相 A(pH 8.0 的 25 mmol/L NH₄H₂PO₄ 溶液)和 B(乙醇)的比例、流动相的 pH 等因素对分离度的影响, 进而优化出分离效果较好的色谱条件。

(1) 洗脱方式的选择: 色谱柱为 Hamilton PRX-X100 (250 mm×4.1 mm, 10 μm), 选择已优化好的流动相 A 的 pH(A 与 B 体积比为 99:1), 流速 1.0 mL/min; 进样量 50 μL, 柱温 25 °C, ICP-MS 工作条件如 1.3.2, 采用等度和梯度洗脱 2 种方式, 梯度洗脱程序见表 1。比较 5 种不同砷形态的分离效果。

(2) 流动相 pH 的选择: 色谱柱为 Hamilton PRX-X100 (250 mm×4.1 mm, 10 μm), 流速 1.0 mL/min; 进样量 50 μL, 柱温 25 °C, ICP-MS 工作条件如 1.3.2, 配制不同 pH 的流动相 A(A 与 B 体积比为 99:1), pH 分别为 6.57, 8.00, 8.57, 进样, 观察分离效果进而优化选择。

(3) 流动相 A、B 比例的优化: 色谱柱为 Hamilton PRX-X100(250 mm×4.1 mm, 10 μm), 流速 1.0 mL/min; 进样量 50 μL, 柱温 25 °C, ICP-MS 工作条件如 1.3.2, 流动相 A 与 B 的体积比分别为 80:20, 90:10, 95:5, 99:1, 观察分离效果以选择最优比例。

1.6.2 提取温度的优化 保持试验条件(包括色谱条件和 ICP-MS 工作条件)均相同, 考察了不同温度(50, 60, 70, 80, 90, 100 °C)对 5 种砷形态提取效率的影响。

表 1 洗脱程序

Table 1 Elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0	100
15	100	0
20	0	100
25	0	100

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 洗脱方式的选择 由于水产动物中含有较高浓度的无机砷, 因此选用阴离子交换色谱柱、洗脱能力较强的磷酸盐缓冲体系, 试验比较了等度洗脱和梯度洗脱不同方式对 5 种砷形态的分离效果。由图 1 可知, 2 种方式均可有效分离 5 种砷形态, 但是梯度洗脱时间较长, 与等度洗脱分离效果无明显差别, 而等度洗脱较为方便并且可以缩短分离时间, 在 8 min 内能够实现 5 种砷形态的分离且效果较好。因此选用等度洗脱方式。

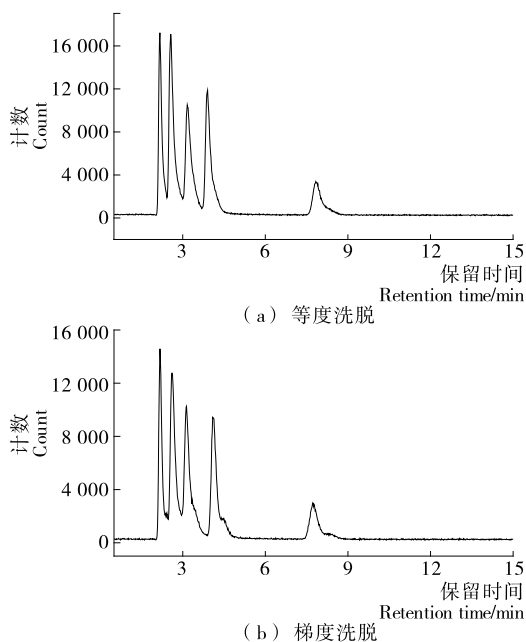


图 1 不同洗脱方式对 5 种砷形态分离效果的影响

Figure 1 The effect of different eluting methods on the separation effect of 5 types of arsenic

2.1.2 流动相的优化 预试验发现, 加入 EDTA 与否对出峰效果及峰型无明显影响。因此, 不在流动相中加入 EDTA。

(1) 流动相 pH 值对分离度的影响: 流动相 pH 值的变化对 5 种砷形态的保留时间影响较大。由图 2 可知, 当 pH 为 6.57 和 8.71 时均不能正常出峰; 而 pH 为 8.00 时, 5 种砷形态均可正常出峰, 且保留时间较短; pH 为 8.71 时, As(V) 的保留时间增加, 且 AsB 与 As(III) 无法分离。因此选择最佳 pH 为 8.00。

(2) 流动相 A 与 B 比例的选择: 据报道^[18], 加入适量的

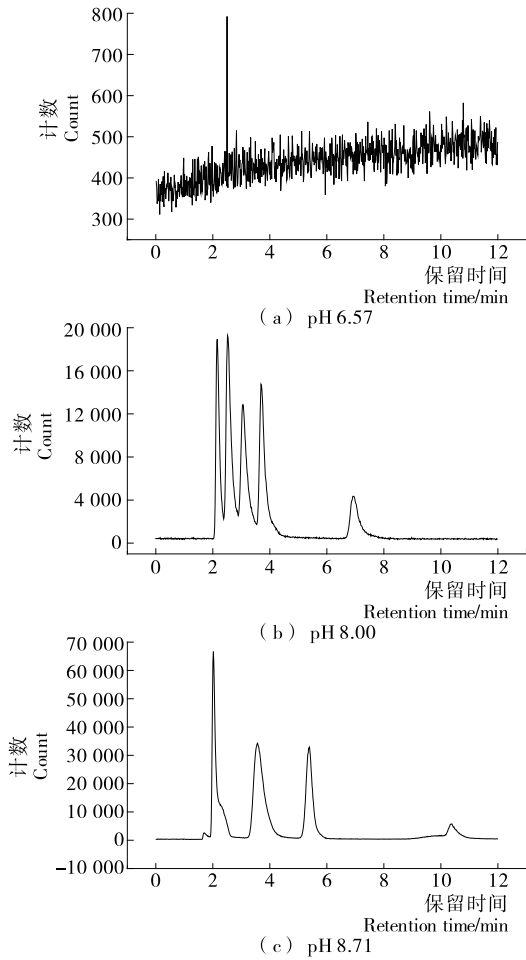


图2 流动相 pH 值对 5 种砷形态保留时间的影响

Figure 2 The influence of pH value on retention time of five arsenic species

有机相可以提高 ICP-MS 对砷检测的灵敏度,但加入有机溶剂过多,会使矩管及锥孔积炭效应严重,反而降低仪器灵敏度。由图 3 可知,随着有机溶剂比例的减小,5 种砷形态的保留时间逐渐减小,As(V) 的保留时间由 A 与 B 体积比为 80 : 20 时的 9.37 min 减小到 A 与 B 体积比为 99 : 1 时的 7.98 min,同时也能保持较高的灵敏度。因此,考虑选择流动相 A 与 B 体积比为 99 : 1。

2.2 提取温度的选择

由于温度对 5 种砷形态的提取效率影响较大,其中 As(III) 和 As(V) 还会在一定条件下会发生转化,而有机砷形态稳定性较好,因此考察了温度对 5 种砷形态的提取效果的影响。试验中以 0.15 mol/L 硝酸水溶液为提取剂,提取时间设为 30 min,分别设置不同温度对 5 种砷形态进行提取,结果见表 2。对于 DMA、MMA 2 种砷形态来说,随着温度的增加,提取效率逐渐增加,但 80 °C 以后增加幅度减小,AsB 的提取效率受温度影响较小。As(III) 在温度高于 80 °C 后易转化,使提取效率降低,而 As(V) 在 80 °C 以后提取效率有所增加,可能是由于过高的温度使得 As(III) 发生了某种程度的转化,而总砷也是随着温度升高,提取效率增加,但是当温度 > 80 °C 以后增加幅度不大,说明 80 °C 以后大部分的砷

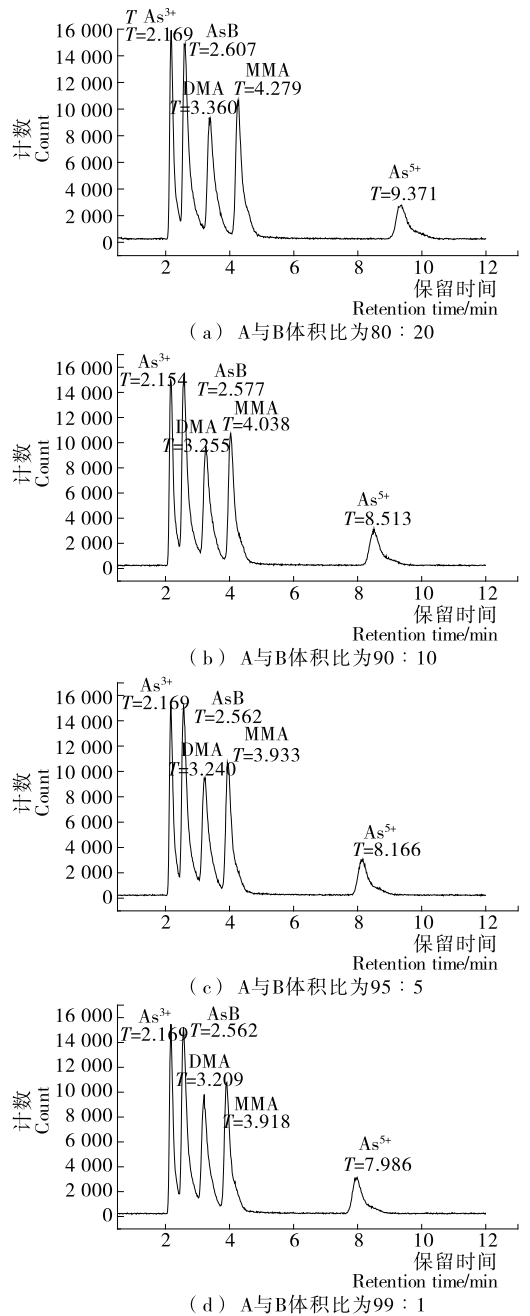


图3 流动相比对 5 种砷形态保留时间的影响

Figure 3 The effect of mobile phase ratio on retention time of five arsenic species

表 2 不同温度下 5 种砷形态的提取量

Table 2 Extraction amounts at different temperatures of the five arsenic species μg/kg

提取温度/°C	As(III)	As(V)	DMA	MMA	AsB	总 As
50	5.69	4.59	5.63	5.58	6.64	4.97
60	7.23	6.85	6.53	6.84	6.56	5.89
70	8.48	9.02	8.98	8.03	6.78	8.72
80	9.00	9.08	9.26	9.66	6.58	9.06
90	8.56	9.12	9.31	9.79	6.77	9.08
100	8.02	9.36	9.19	9.28	6.78	9.18

形态提取得较为完全,无需在更高温度条件下进行提取。综合考虑,选择 80 °C 为最佳提取温度。

2.3 方法的线性范围及检出限

分别配制 0~100 $\mu\text{g/L}$ 的 5 种砷形态化合物混合标准系列溶液,在优化好的色谱条件及 ICP-MS 工作条件下进行分析,浓度梯度在 0~100 $\mu\text{g/L}$ 时,相关系数 r 均在 0.999 0 以上。采用逐级稀释法,在 0.1 $\mu\text{g/L}$ 时 As(III) 的信噪比 (S/N) ≥ 3 ;在 0.4 $\mu\text{g/L}$ 时 As(V) 的信噪比 (S/N) ≥ 3 ;在 0.15 $\mu\text{g/L}$ 时 MMA 的信噪比 (S/N) ≥ 3 ;在 0.15 $\mu\text{g/L}$ 时 DMA 的信噪比 (S/N) ≥ 3 ;在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 时 AsB 的信噪比

(S/N) ≥ 3 ;由此确定 5 种砷形态化合物的检出限分别为 0.1~0.5 $\mu\text{g/L}$;称样量为 1.0 g,定容体积为 20 mL,5 种砷形态的最低检出浓度、定量限(以 $S/N \geq 10$ 确定方法定量限)等数据见表 3。由表 3 可知,5 种砷形态的最低检出浓度为 0.002~0.010 mg/kg,定量限为 0.007~0.010 mg/kg。

2.4 精密度试验

为检验方法的精密度,选择浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 的 5 种形态砷的混合标准溶液连续平行测定 6 次,其相对标准偏差分别为 1.5%, 3.3%, 4.5%, 4.5%, 2.9%, 精密度良好,结果见表 4。

表 3 标准曲线和检出限[†]

Table 3 The standard curves and detection limits

砷形态	线性方程	相关系数 r	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	最低检出浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
As(III)	$Y=3\ 931.71X-1\ 788.46$	0.999 7	0.10	0.002	0.007
As(V)	$Y=1\ 525.62X+2\ 623.80$	1.000 0	0.40	0.008	0.026
MMA	$Y=3\ 404.586X-274.33$	0.999 8	0.15	0.003	0.010
DMA	$Y=2\ 798.36X-326.16$	0.999 6	0.15	0.003	0.010
AsB	$Y=2\ 885.27X-1\ 016.91$	1.000 0	0.50	0.010	0.033

[†] X 表示标准溶液的质量浓度,ng/mL; Y 为仪器响应值。

表 4 精密度试验

Table 4 Precision experiment

砷形态	$\mu\text{g/L}$						平均值	RSD/%
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]		
As(III)	10.10	10.20	9.68	9.78	9.49	9.90	9.86	1.5
As(V)	9.85	9.26	10.10	9.85	10.20	9.75	9.83	3.3
MMA	9.78	10.90	9.86	10.20	9.61	10.20	10.09	4.5
DMA	10.90	10.20	9.68	9.98	10.20	9.89	10.30	4.5
AsB	9.78	9.67	9.87	10.30	9.59	10.20	9.91	2.9

2.5 加标回收试验

准确称取相同质量(1.000 g 左右)的已搅碎虾肉组织,并向其中加入 3 种浓度水平(分别为 5, 20, 80 $\mu\text{g/L}$)的 5 种砷形态的混合标准溶液,用 1.3 所述方法进行样品前处理,在已优化好的色谱条件和 ICP-MS 工作条件下进行测定,平行进样 3 次,计算平均回收率,见表 5。由表 5 可知,加标浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 时,回收率为 87.8%~97.5%;加标浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 时,回收率为 91.0%~95.5%;加标浓度为 80 $\mu\text{g/L}$ 时,回收率为 92.3%~95.6%,均满足 GB/T 27404—2008 标准的要求(80%~110%)。

2.6 方法准确度验证

采用有证标准物质金枪鱼肉组织 BCR 627,考察方法准确度。由表 6 可知,本方法对金枪鱼肉组织标准物质中砷形态测定结果能与标准参考值保持一致。说明该方法准确度较高,结果稳定可靠。

2.7 实际样品测定

抽取漯河市市售 13 种水产动物及其制品各 6 批次,根据优化后的仪器条件和样品处理方法分别对其进行 5 种砷

表 5 样品中 5 种砷形态的加标回收率[†]

Table 5 The recovery of five arsenic species in the samples

砷形态	样品含量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	总含量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)			平均回收率/%
As(III)	0.505	5	4.885	4.910	4.892	87.8
		20	18.920	19.060	18.890	92.2
		80	75.380	75.490	76.320	94.0
As(V)	N.D	5	4.405	4.416	4.491	88.7
		20	19.260	19.070	18.970	95.5
		80	75.360	75.540	75.610	94.4
MMA	4.270	5	8.670	8.710	8.630	88.0
		20	22.250	22.510	22.640	91.0
		80	80.830	81.010	80.290	95.5
DMA	2.085	5	6.475	6.481	6.387	87.2
		20	20.140	20.340	20.630	91.4
		80	78.410	78.580	78.690	95.6
AsB	8.672	5	13.110	13.520	14.020	97.5
		20	27.150	27.340	26.890	92.2
		80	82.110	82.350	83.170	92.3

[†] N.D 表示未检出。

表6 BCR 627 中砷形态测定结果

Table 6 The determination results of BCR627 arsenic species

砷形态	标准值/ (mg·kg ⁻¹)	不确 定度	测量值 1 [#] / (mg·kg ⁻¹)	测量值 2 [#] / (mg·kg ⁻¹)	平均值/ (mg·kg ⁻¹)
DMA	0.15	0.3	0.15	0.14	0.14
AsB	3.90	3.0	3.91	3.85	3.88

形态含量的检测,见表7。由表7可知,在不同种类的水产动物样品及其制品中,有机砷含量较高,无机砷[As(Ⅲ)和As(V)之和]含量较低,大部分在0.005~0.063 mg/kg,均符合GB 2762—2012中污染物限量的规定(鱼类及其制品中无机砷的限量不超过0.1 mg/kg,其他水产动物及其制品中无机砷含量不超过0.5 mg/kg)。

表7 不同水产动物及其制品中砷形态含量测定结果[†]

Table 7 The determination results of arsenic species content in different aquatic animals and their products (n=3) mg/kg

种类	As(Ⅲ)	As(V)	MMA	DMA	AsB
虾	0.013	N.D	N.D	0.24	0.063
海苔	0.063	N.D	N.D	0.25	0.029
鱿鱼	0.029	N.D	N.D	0.022	0.53
草鱼	0.043	N.D	N.D	0.016	0.078
鲳鱼	0.036	N.D	N.D	0.045	0.29
扇贝	0.008 6	N.D	N.D	0.079	0.28
芝士鱼肠	0.007 8	N.D	N.D	0.028	0.084
烤鳕鱼片	0.023	N.D	N.D	0.019	0.052
鱿鱼丝	0.028	N.D	N.D	0.029	0.34
尤利鱼片	0.037	N.D	N.D	0.047	0.019
秋刀鱼	0.058	N.D	N.D	0.086	0.056
墨鱼红	0.014	N.D	N.D	0.11	0.76
虾红	0.049	0.007 4	N.D	0.16	0.12

† N.D表示未检出。

3 结论

本研究建立了用20 mL 0.15 mol/L硝酸水溶液微波消解的前处理方法提取样品中的砷形态,Agilent 1260 Infinity LC与Agilent 7700x ICP-MS联用技术分离测定水产动物及其制品中的5种砷形态。与GB 5009.17—2014中所述的测定无机砷的前处理方法相比,该法简单、测定周期短,采用He模式下的碰撞反应池可以消除Cl对As的潜在干扰,稳定性好,同时具有较高的灵敏度;采用磷酸盐缓冲液作为流动相,Hanilton PRX-X100阴离子色谱柱作为分析柱,通过对色谱条件进行优化,也可以使5种砷形态达到良好的分离效果,检出限较低,精密度高;该方法在砷质量浓度为0~100 μg/L时呈现良好的线性关系,5种形态砷的相关系数均在0.999 0以上;通过对有证标准物质金枪鱼鱼肉组织BCR 627进行测定及加标回收试验验证了此方法的准确度,因此本研究所建立的方法适用于快速测定水产动物及其制品中的砷形态。

但是,由于砷有多种存在形态,本试验只研究了砷酸根[As(V)]、亚砷酸根[As(Ⅲ)]、砷甜菜碱AsB、一甲基砷

(MMA)和二甲基砷(DMA)5种砷形态的分离检测效果,而砷胆碱(AsC)、洛克沙砷(ROX)、4-羟基苯砷酸(4-HPAA)、4-硝基苯砷酸(4-NPAA)等有机砷常作为饲料添加剂使用,能够提高饲料转化率、提高产蛋量,但是仍具有一定的毒性,过量添加会使动物中枢神经系统失调,促使脑病和视神经萎缩的发病率升高;若这些有毒性的有机砷在动物体内代谢过程中残留或降解为其他砷形态化合物,对动物造成损害的同时,也会经过食物链进入到人体,从而威胁人体健康。因此,同时分离、测定多种砷形态的简单高效方法仍需进一步开发。

参考文献

- [1] MANDAL B K, SUZUKI K T. Arsenic round the world: a review[J]. *Talanta*, 2002(58): 201-235.
- [2] 杨芬, 韦朝阳, 刘金鑫. 砷形态分析的样品前处理技术研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2016, 39(10): 79-86.
- [3] 苑春刚, CHRIS LE X. 砷形态分析[J]. *化学进展*, 2009, 21(Z1): 467-473.
- [4] SHARMA V K, SOHN M. Aquatic arsenic: toxicity, speciation, transformations and remediation[J]. *Environment International*, 2009(35): 743-759.
- [5] WATANABE T, HIRANO S. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance[J]. *Archives Toxicology*, 2013, 87(6): 969-979.
- [6] 巩佳第, 曹晓林, 曹赵云, 等. 液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定稻米中的5种砷形态[J]. *色谱*, 2014, 32(7): 717-722.
- [7] 刘华琳, 赵蕊, 韦超, 等. 高效液相色谱-在线消解-氢化物发生原子吸收光谱联用技术研究[J]. *分析化学*, 2005(11): 1 522-1 526.
- [8] 欧阳津, 时彦, 张新荣. 液相色谱分离-氢化物原子吸收测定血清中不同形态的有机砷化合物[J]. *分析化学*, 1999(10): 1 151-1 155.
- [9] 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.
- [10] 王亚, 张春华, 葛滢. 高效液相色谱-氢化物发生-原子荧光光谱法检测紫菜中的砷形态[J]. *分析实验室*, 2013, 32(5): 34-38.
- [11] 陈新坤, 马锦秋, 黄志荣. 高压液相色谱-电感耦合等离子体发射光谱联用技术在元素化学形态分析中的应用[J]. *岩矿测试*, 1998(1): 53-59.
- [12] 金鹏飞, 吴学军, 邹定, 等. HPLC-ICP-MS研究炮制对中药砷形态的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(3): 816-819.
- [13] 刘崴, 杨红霞, 胡俊栋, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定土壤中砷形态[J]. *分析实验室*, 2015, 34(5): 529-532.
- [14] 汤璐, 张琳琳, 张贵伟, 等. HPLC-ICP-MS测定干香菇中砷形态[J]. *食品工业*, 2015, 36(12): 275-277.
- [15] 朱敬萍, 郭远明, 郑斌, 等. 可食性藻类中砷形态分析方法研究进展[J]. *现代渔业信息*, 2009, 24(8): 18-19, 28.
- [16] 陈发荣, 郑立, 韩力挥, 等. 毛细管电泳-电感耦合等离子体质谱(CE-ICP-MS)联用测定干海产品中的六种砷形态化合物[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(19): 304-307.
- [17] 林立, 陈光, 陈玉红. 液相色谱-电感耦合等离子体质谱法联用测定动物性海产品中的无机砷[J]. *环境化学*, 2009(1): 149-152.
- [18] 林立, 陈光, 陈玉红. 液相色谱-电感耦合等离子体质谱法联用测定白酒中的无机砷[J]. *环境化学*, 2008(6): 853-855.